



**Inês Carvalho Pereira    Avaliação   de   parâmetros   físico-químicos   e  
sensoriais de rolhas de cortiça**



**Inês Carvalho Pereira    Avaliação de parâmetros físico-químicos e sensoriais de rolhas de cortiça**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Bioquímica Alimentar, realizada sob a orientação científica da Doutora Sílvia Maria da Rocha Simões Carriço, Professora Auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro e supervisão da Doutora Luísa Nero, gerente da empresa PrecisionElite.

Dedico este trabalho à minha família pelo incansável apoio.

## **o júri**

presidente

**Prof. Doutora Ivonne Delgadillo Giraldo**

professora associada com agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

**Prof. Doutor Pedro Miguel Dimas Neves Domingues**

professor auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

**Prof. Doutora Sílvia Maria Rocha Simões Carriço**

professora auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

## **agradecimentos**

À professora Doutora Sílvia Rocha pela disponibilidade, orientação científica e espírito crítico que foram essenciais para o sucesso deste trabalho.

À Doutora Luísa Nero, gerente da PrecisionElite, pela oportunidade dada.

À Engenheira Ana Rios, por todo o conhecimento que me transmitiu, por toda a ajuda e disponibilidade para desenvolver o meu trabalho da melhor forma possível.

A todos os colaboradores da PrecisionElite por me terem acolhido e tratado tão bem.

À minha família pelo apoio e presença incondicionais, pela ajuda e incentivo, principalmente nos momentos mais difíceis.

Aos meus amigos pela amizade, paciência e apoio que demonstraram para comigo ao longo destes anos.

## palavras-chave

Rolhas de cortiça, parâmetros físico-químicos, análise sensorial, 2,4,6-tricloroanisol

## resumo

As rolhas de cortiça são o material de eleição para o fabrico de vedantes para garrafas de vinho e precisam de ser sujeitas a um rigoroso processo de controlo de qualidade a fim de assegurar a sua função. Esta dissertação foi realizada na empresa PrecisionElite que opera no acabamento das rolhas inseridas totalmente no gargalo. O trabalho foi organizado em duas fases: a primeira teve como objetivo conhecer a empresa, os seus produtos e serviços e o processo de gestão de qualidade implementado. A segunda fase teve como objetivo avaliar os parâmetros físico-químicos e sensoriais das rolhas de cortiça.

Na primeira fase foi possível conhecer a empresa PrecisionElite, acompanhar auditorias de qualidade e resoluções de não conformidades que permitiu um grande enriquecimento profissional e pessoal.

Na segunda fase foram avaliados os seguintes parâmetros físico-químicos nas rolhas de cortiça: a capilaridade, a estanquicidade/comportamento à vedação líquida, a força de extração, a humidade, a resistência à água fervente, as dimensões (comprimento e diâmetro), ovalização, massa volúmica, o teor de peróxido de hidrogénio, o teor de resíduos sólidos e a quantificação de haloanisóis. Verificou-se que, nos lotes aceites pela empresa, todos os parâmetros físico-químicos se encontravam dentro dos limites de aceitação. Nos parâmetros sensoriais das rolhas de cortiça, verificou-se, através das análises sensoriais realizadas, que os compostos voláteis com descritores de aromas pertencentes ao grupo bolor e TCA são os mais comuns. Em relação às características sensoriais entre dois tipos de rolhas, naturais e naturais colmatadas verificou-se que: o número de lotes contaminados com compostos voláteis capazes de provocar defeitos de aroma nos vinhos é idêntico para os dois tipos de rolhas mas o número de rolhas contaminadas por lote é mais elevado nos lotes de rolhas naturais; em ambos os tipos rolhas os descritores de aroma pertencentes ao grupo bolor foram os mais frequentes sendo que nos lotes de rolhas naturais encontrou-se uma maior diversidade de descritores de aromas; os lotes de rolhas naturais colmatadas contaminados apresentaram níveis de intensidade de aromas mais elevados. Ao analisar as características sensoriais de rolhas de diferentes classes provenientes de cada recolha de cortiça verificou-se que as variâncias dos descritores de aroma e das percentagens de rolhas contaminadas por classe não são homogêneas, mas as intensidades de aromas detetados não apresentam diferenças significativas.

Com este trabalho verificou-se que: os parâmetros físico-químicos ao se apresentarem dentro dos limites de aceitação vão ser influenciados positivamente entre eles. Nos parâmetros sensoriais, os compostos voláteis com descritores de aromas pertencentes ao grupo bolor e TCA ainda são um problema para a indústria vinícola e corticeira.

**keywords**

Cork stoppers, physico-chemical parameters, sensory analysis, 2,4,6-trichloroanisole.

**abstract**

The corks stoppers are the material of choice used to produce wine-bottling stoppers and they need to be subjected to a rigorous quality control process to ensure the function. This dissertation was carried out at PrecisionElite, which operates in the finishing of the stoppers inserted completely in the bottleneck. The work was organized in two phases: the first one had the objective to know the company, to know its products and services and the quality management process implemented. The second phase had the objective to evaluate the physical-chemical and sensorial parameters of cork stoppers.

In the first phase, it was possible to know the company PrecisionElite, to keep up with quality audits and resolutions of nonconformities that allowed a great professional and personal enrichment. In the second phase, physical and chemical parameters were evaluated in cork stoppers like capillarity, sealing behaviour, extraction force, humidity, resistance to boiling water, dimensions (length and diameter), ovalization, density, hydrogen peroxide content, solid waste content and the quantification of haloanisoles.

It was verified that, in the lots accepted by the company, all the physical-chemical parameters were within the limits of acceptance. In the sensorial parameters of the cork stoppers, through the sensorial analyses realized, it was verified that the volatile compounds with descriptors of aromas belonging to the mould group and TCA are the most common. Regarding the sensorial characteristics between natural and natural colmated stoppers, it was found that: the number of lots contaminated with volatile components that could produce a wine organoleptic deviations is identical for both types of stoppers, but the number of contaminated stoppers per lot is higher in lots of natural corks. In both types of cork stopper the aroma descriptors belonging to the mould group were the most frequent ones but in the natural cork lots there was a greater diversity of aroma descriptors. In other hand, the lots of natural colmated stoppers showed higher levels of aroma intensity than lots of natural stoppers. When analysing the sensory characteristics of cork stoppers of the different classes from each cork collection, it was verified that the variances of the aroma descriptors and the percentages of contaminated corks per class are not homogeneous but the intensities of the detected aromas do not present significant differences.

It was verified that physical-chemical parameters within the limits of acceptance will be influenced positively between them. In the sensorial parameters, the volatile compounds with descriptors of aromas belonging to the group mould and TCA are still a problem for the wine and cork industries.

## Índice de figuras

Figura 1: Constituição da periderme da casca do sobreiro <i>Quercus suber</i> L. [5].	2
Figura 2: Fotografia de microscopia eletrónica de varrimento: seção tangencial de células de cortiça em reprodução [5].	3
Figura 3: Processo de produção de rolhas de cortiça naturais e naturais colmatadas.	6
Figura 4: Rolhas de cortiça de diferentes classes, da esquerda para a direita: flor, extra, superior, 1º, 2º, 3º, 4º.	8
Figura 5: Mecanismos de formação de 2,4,6-triclorofenol que exemplificam a via de formação do 2,4,6-tricloroanisol.	18
Figura 6: Roda dos aromas da cortiça [37].	21
Figura 7: A- Localização da solução corada e da aplicação de pressão no tubo de vidro com a rolha no ensaio de determinação da estanquicidade; B- Possível fuga que pode ocorrer na interface rolha-vidro quando é aplicada pressão na solução corada no ensaio de determinação da estanquicidade.	27
Figura 8: Diagrama do trabalho realizado na empresa PrecisionElite: parâmetros analisados no laboratório da empresa e o número mínimo de rolhas analisadas por lote.	35
Figura 9: Capacidade de vedação (em % de rolhas vedantes) e força de extração (em daN) de lotes de rolhas naturais sem revestimento.	39
Figura 10: Capacidade de vedação (em % de rolhas vedantes) e força de extração (em daN) de lotes de rolhas naturais com revestimento.	39
Figura 11: Teor de resíduos sólidos libertados (em mg/rolha) e força de extração (em daN) de lotes de rolhas naturais (lotes nºs 804, 849, 892, 123, 213, 214, 215, 229, 251 e 255) aglomeradas/microaglomeradas (lotes nºs: 797, 859 e 897) e naturais colmatadas (lotes nºs 796, 806, 856, 865,75 e 184).	41
Figura 12: Capacidade de vedação (em % de rolhas vedantes) e o teor de humidade (em %) de lotes de rolhas naturais sem revestimento.	43
Figura 13: Capacidade de vedação (em % de rolhas vedantes) e teor de humidade (%) de lotes de rolhas naturais com revestimento.	43
Figura 14: Força de extração (em daN) e teor de humidade (em %) em lotes de rolhas naturais sem revestimento.	44
Figura 15: Comprimento (em mm) e teor de humidade (em %) das rolhas naturais sem revestimento.	45
Figura 16: Concentração de TCA (ng/L) de lotes de rolhas naturais. ** <Limite de quantificação (0,5ng/L) e * - <Limite de deteção (0,3ng/L). A linha vermelha indica a concentração máxima de TCA admitida pela PrecisionElite.	49
Figura 17: Concentração de TCA (ng/L) de lotes de rolhas naturais colmatadas. ** <Limite de quantificação (0,5ng/L). A linha vermelha indica a concentração máxima de TCA admitida pela PrecisionElite.	49
Figura 18: Concentração de TCA (ng/L) de lotes de rolhas aglomeradas/microaglomeradas. A linha vermelha indica a concentração máxima de TCA admitida pela PrecisionElite.	49
Figura 19: Percentagem de lotes contaminados e descritores de aromas obtidos na análise sensorial dos lotes de rolhas naturais e naturais colmatadas. Os descritores: “outros aromas” indica que, no lote contaminado, estão presentes compostos voláteis com descritores de aroma que não pertencem ao grupo bolor da roda de aromas da cortiça e TCA e a “mistura de aromas” indica que, no lote contaminado, estão presentes compostos	



voláteis com descritores de aroma pertencentes a diferentes grupos da roda de aromas da cortiça. ....	51
Figura 20: A- Percentagem de lotes contaminados e intensidade de aroma mais elevada detetada na análise sensorial dos lotes de rolhas naturais e rolhas naturais colmatadas. B- Percentagem de rolhas naturais contaminadas por lote e intensidade de aroma mais elevada detetada na análise sensorial (0- sem aroma, 1- Muito ligeiro, 2- Ligeiro, 3- Moderado, 4- Intenso e 5- Muito intenso) (Coeficiente de Pearson: 0,61). ....	53

## Índice de tabelas

Tabela 1: Principais componentes químicos presentes da cortiça da Quercus Suber L. (em percentagem de componentes totais) [7].	5
Tabela 2: Tipos de rolhas de cortiça produzidas na PrecisionElite e respectivas características.	7
Tabela 3: Parâmetros físico-químicos e sensoriais analisados nas rolhas de cortiça na PrecisionElite.	10
Tabela 4: Limiar de percepção sensorial e descritores de aroma dos haloanisóis relacionados com defeitos de aroma em vinhos associados à cortiça [36- 41].	16
Tabela 5: Compostos voláteis identificados na cortiça (normal), respectivos descritores de aroma e limites de percepção sensorial [48 - 49].	19
Tabela 6: Amostragem dos respetivos ensaios realizados. Em todos os tipos de rolhas analisados, as classes foram indiferenciadas.	25
Tabela 7: Amostragem da análise sensorial e quantificação de haloanisóis. Em todos os tipos de rolhas analisados, as classes e o calibre foram indiferenciados.	26
Tabela 8: Características técnicas do MedCork	29
Tabela 9: Compostos, descritores de aromas e concentração dos padrões utilizados na análise sensorial.	32
Tabela 10: Força de extração (em daN) dos diferentes tipos de rolhas.	38
Tabela 11: Teor de resíduos sólidos (mg/rolha) dos diferentes tipos de rolhas.	40
Tabela 12: Teor de humidade (em %) dos diferentes tipos de rolhas.	41
Tabela 13: Percentagem de rolhas técnicas (1+1) que apresentaram descolagens (parciais e totais), resultantes da determinação da resistência à água fervente.	44
Tabela 14: Comprimento (em mm) dos diferentes tipos de rolhas.	45
Tabela 15: Diâmetro (em mm) dos diferentes tipos de rolhas.	46
Tabela 16: Massa volúmica ( $\text{Kg/m}^3$ ) dos diferentes tipos de rolhas.	47
Tabela 17: Ovalização (em mm) dos diferentes tipos de rolhas.	47
Tabela 18: Teste de igualdade de variâncias (Teste de Levene) para os descritores de aromas, intensidades de aromas e percentagens de rolhas contaminadas, obtidos através da análise sensorial, das diferentes classes de rolhas provenientes de cada recolha de cortiça (nível de significância=0,05).	55

# Índice

Índice de figuras .....	i
Índice de tabelas .....	iii
Índice .....	iv
<b>1. Introdução .....</b>	<b>1</b>
1.1 Enquadramento do trabalho .....	1
1.2 Cortiça e a sua estrutura celular .....	2
1.3 Composição química da cortiça .....	3
1.4 Processo de produção de rolhas de cortiça naturais e aglomeradas/ microaglomeradas e técnicas (1+1) .....	6
1.5 Parâmetros físico-químicos e sensoriais analisados em rolhas de cortiça .....	10
1.5.1 Parâmetros físico-químicos .....	10
1.5.2 Parâmetros sensoriais .....	19
1.6 Objetivos do trabalho .....	24
<b>2. Parte experimental .....</b>	<b>25</b>
2.1 Amostragem .....	25
2.2 Parâmetros físico-químicos .....	26
2.2 Parâmetros sensoriais .....	32
2.3 Tratamento de dados .....	33
2.3.1 Parâmetros físico-químicos .....	33
2.3.2 Parâmetros sensoriais .....	34
<b>3. Resultados e discussão .....</b>	<b>35</b>
3.1 Parâmetros físico-químicos .....	36
3.2 Parâmetros sensoriais .....	50
<b>4. Conclusões .....</b>	<b>57</b>
<b>5. Bibliografia .....</b>	<b>59</b>
<b>6. Anexos .....</b>	<b>65</b>
Anexo I: Tabela de amostragens .....	65
Anexo II: Ficha de prova da análise sensorial .....	66
Anexo III: Formação inicial- Acolhimento .....	67
Anexo IV: Força de extração e o teor de humidade das rolhas de cortiça .....	68
Anexo V: Dimensões e o teor de humidade das rolhas de cortiça .....	69

Anexo VI: Análise sensorial e quantificação de haloanisóis das rolhas de cortiça naturais .....	72
Anexo VII: Análise sensorial de rolhas de cortiça natural de diferentes classes provenientes de cada recolha de cortiça .....	79

## Lista de abreviaturas e siglas

<b>Sigla/abreviatura</b>	<b>Português</b>	<b>Inglês</b>
2,3,4,6-TeCA	2,3,4,6-tetracloroanisol	2,3,4,6-tetrachloroanisole
2,4,6-TBA	2,4,6-tribromoanisol	2,4,6-tribromoanisole
APCOR	Associação Portuguesa da Cortiça	Portuguese Cork Association
CIPR	Código Internacional das Práticas Rolheiras	International Code of Cork Stopper Practices
ECD	Detetor de captura de eletrões	Electron Capture Detector
FDA		Food and Drug Administration
GC-FID	Cromatografia de fase gasosa e detetor de ionização de chama	Gas Chromatography – Flame Ionization Detector
GC-MS	Cromatografia de fase gasosa acoplada com espectrometria de massa	Gas Chromatography–Mass Spectrometry
HACCP	Análise de perigos e controlo dos pontos críticos	Hazard Analysis and Control of Critical Points
ISO	Organização internacional para padronização	International Organization for Standardization
NP	Norma Portuguesa	Portuguese Norm
PCA	Pentacloroanisol	Pentachloroanisole
rpm	Rotação por minuto	Rotation per minute
SPME	Micro extração em fase sólida	Solid Phase Micro Extraction
TCA	2,4,6-tricloroanisol	2,4,6-trichloroanisole
TCP	2,4,6-triclorofenol	2,4,6-trichlorophenol
v/v	volume/volume	volume/volume

# **1. Introdução**

## **1.1 Enquadramento do trabalho**

Segundo a APCOR, Portugal é um dos maiores produtores de cortiça com cerca de 49,6% da produção mundial representando uma valorização económica bastante notável uma vez que contribuiu com 19,3% de vendas nacionais para o mercado externo [1]. O principal setor de destino dos produtos de cortiça é a indústria vinícola que absorve 70,1% de tudo o que é produzido. Apesar do decréscimo da utilização das rolhas de cortiça devido ao aparecimento de produtos alternativos, a cortiça é essencial para manter os atributos sensoriais do vinho devido às suas propriedades químicas e físicas [2].

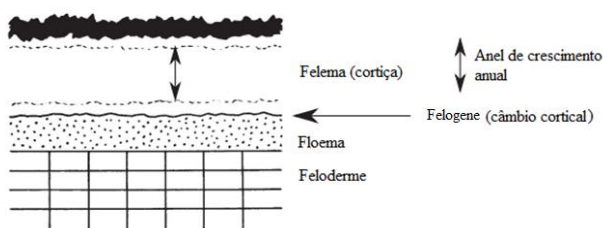
As rolhas de cortiça são o material de eleição para o fabrico de vedantes para garrafas de vinho e precisam de ser sujeitas a um rigoroso processo de controlo de qualidade a fim de assegurar a sua função. A implementação e adoção por parte da indústria de cortiça do Código Internacional das Práticas Rolheiras (CIPR) e do Systecode (Sistema de Certificação das Empresas) permitiu não só controlar a presença de compostos voláteis não desejáveis na rolha de cortiça, mas também assegurar a qualidade física e química da mesma [2]. Os parâmetros físico-químicos das rolhas de cortiça são assegurados pelos ensaios de determinação: da capilaridade, da estanquicidade/comportamento à vedação líquida, da força de extração, da humidade, da resistência à água fervente (aplicado apenas a rolhas técnicas), das dimensões, da massa volúmica, do teor de peróxido de hidrogénio, do teor de resíduos sólidos e da quantificação de haloanisóis. Os parâmetros sensoriais das rolhas de cortiça são assegurados pela análise sensorial de compostos voláteis capazes de provocar defeitos de aroma nos vinhos pois a presença destes tem como consequência a alteração da qualidade dos vinhos [3]. A maioria dos estudos sobre estes compostos associados à rolha de cortiça tem incidido quase exclusivamente sobre o 2,4,6-tricloroanisol uma vez que este composto é descrito como o maior responsável pela alteração organolética dos vinhos.

O presente trabalho de estágio de mestrado foi desenvolvido na empresa PrecisionElite que foi fundada em 2011. Esta empresa desenvolve-se no setor das rolhas de cortiça e opera no acabamento das rolhas inseridas totalmente no gargalo dando oportunidade ao cliente de definir o tipo, a classe, o calibre e a marcação das rolhas com que vão engarrafar o seu vinho. A empresa apresenta reconhecimento internacional, sendo

certificada pela ISO 9001:2015, pela HACCP e Systecode Excellence que preconiza o CIPR. Devido a este reconhecimento é desenvolvido um sistema de gestão integrado da qualidade no qual as rolhas de cortiça são controladas durante todo o processamento na PrecisionElite.

## 1.2 Cortiça e a sua estrutura celular

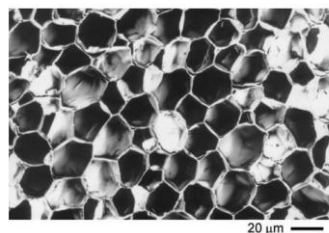
A cortiça é um tecido vegetal originado pelo meristema súbero-felodérmico que constitui o revestimento do tronco e ramos do sobreiro *Quercus suber L.* e é constituída por células mortas que separam as células vivas do ambiente externo [4,5]. A periderme é formada por três partes: o felogene (ou câmbio cortical) que tem espessura unicelular e tem capacidade meristemática que depende do ciclo fisiológico da própria árvore e das condições ambientais; o felema (ou cortiça) que é produzido pelo felogene para o exterior e é suberificado; e pela feloderme que é produzida pelo felogene para o interior que dá origem a células semelhantes às da madeira (representado na figura 1).



**Figura 1:** Constituição da periderme da casca do sobreiro *Quercus suber L.* [5].

As características invulgares que a cortiça apresenta face a outros materiais como flexibilidade, elasticidade e compressibilidade e o facto de ser um tecido homogéneo suficientemente espesso que se regenera após cada extração devido a sua estrutura celular e composição química, explicam o seu interesse industrial e a sua vasta exploração [6]. Atualmente a aplicação principal da cortiça é como vedante, no setor vinícola, ou como isolante e decorativo no setor da construção civil [1].

A nível microscópico, a cortiça é um tecido celular vegetal compacto e homogéneo, sem espaços vazios entre células contíguas. Na secção tangencial, as células de cortiça apresentam a forma de polígonos com 5, 6 ou 7 faces num arranjo de aparência alveolar em forma de favo de mel (figura 2) [6]. As células constituintes são de parede fina e suberificada que estão alinhadas na direção radial do tronco da árvore, são ocas e fechadas e contêm ar no seu interior [5,6].



**Figura 2:** Fotografia de microscopia eletrônica de varrimento: seção tangencial de células de cortiça em reprodução [5].

Conforme as estações do ano, o felogene produz células com diferentes dimensões uma vez que a formação de cortiça para em outubro ou novembro e recomeça em abril ou maio [5]. Na primavera, o felogene produz células de maior dimensão sendo mais longas radialmente e a parede celular apresenta-se mais fina do que no outono. Este acontecimento tem como consequência a formação de anéis de crescimento que se observam macroscopicamente na cortiça e que definem os seus anos. Macroscopicamente também é possível visualizar os canais lenticulares (lenticelas) devido à sua coloração castanha escura em contraste com o tecido da cortiça castanho claro. Estes canais lenticulares atravessam radialmente a prancha de cortiça desde o interior do felogene até ao exterior a fim de possibilitar trocas gasosas e não devem ser considerados defeitos uma vez que a sua presença é necessária. O tipo de poros, a sua dimensão, quantidade e distribuição, são um fator (porosidade) determinante e definidor da qualidade da cortiça [6].

### 1.3 Composição química da cortiça

A constituição química da parede celular da cortiça pode ser dividida em dois tipos de componentes: componentes estruturais e componentes não estruturais [7]. Os componentes estruturais são macromoléculas de natureza polimérica, definem a estrutura da própria parede celular, são insolúveis em água e não podem ser removidos da parede celular sem afetar profundamente a sua estrutura e consequentemente as suas propriedades físico-químicas [5]. A remoção de um componente estrutural só é possível através de ataques químicos ou mecânicos com intensidade suficiente para promover a despolimerização parcial [4,5]. Na cortiça, os principais componentes estruturais são a suberina ( $\pm 42\%$ ), a lenhina ( $\pm 22\%$ ) e os polissacarídeos ( $\pm 20\%$ ) sendo a celulose e a hemicelulose os mais abundantes e consequentemente a glucose o monossacarídeo presente em maior quantidade ( $\pm 46\%$ ), seguida da xilose ( $\pm 25\%$ ) e arabinose ( $\pm 18\%$



(tabela 1) [7,8]. A suberina é o principal componente das paredes celulares da cortiça e é responsável pela elasticidade e hidrofobicidade da cortiça [5]. Graça et *al.* estudaram a constituição da suberina da cortiça recorrendo à metanólise alcalina seguida da análise dos monómeros por GC-FID e GC-MS [9]. Verificou-se que cerca de 46% dos monómeros de cadeia longa detetados correspondiam a diácidos (a maior parte eram diácidos C18 insaturados e com grupos epóxido a meio da cadeia), 26% correspondiam a hidroácidos e o glicerol constitui cerca de 14% dos compostos totais da suberina. Os monómeros encontrados na suberina da cortiça podem agrupar-se em ácidos gordos, álcoois gordos e glicerol [5,9]. A lenhina é responsável pela rigidez estrutural das células, pelas suas montagens contínuas e pela resistência à compressão da cortiça [5]. Este composto é uma macromolécula formada pela polimerização de três monómeros de fenilpropano: álcool p-cumarílico, álcool coniferílico e álcool sinapílico. A lenhina é um polímero isotrópico reticulado que pode apresentar-se interligado, com ligações covalentes, à suberina, às hemiceluloses e aos grupos cromóforos que dão a coloração às rolhas [5, 10, 11]. A celulose é um polímero linear constituído por unidades  $\beta$ -D- glucopirranose ligadas entre si por ligações glicosídicas [5]. As moléculas de celulose dispõem-se lado a lado de uma forma compactada e organizada com ligações de hidrogénio intramoleculares (entre monómeros adjacentes) e unidas entre si por ligações de hidrogénio intermoleculares. A hemicelulose é um heteropolímero que inclui monómeros de diferentes monossacarídeos, como pentoses (xilose e arabinose) ou hexoses (glucose, manose, galactose, ramnose e ácido glucurónico). As hemiceluloses diferenciam-se da celulose pela sua constituição monomérica e por possuírem uma estrutura linear ramificada.

Os componentes não estruturais classificam-se em componentes extratáveis e componentes inorgânicos [4]. Os componentes extratáveis correspondem a cerca de 16 % da constituição da parede celular da cortiça (tabela 1) [5,7]. Geralmente são classificados em dois grupos uma vez que podem ser retirados das células por extração com solventes de polaridade adequada [4,5]. Um grupo é constituído por lípidos que são extraídos com solventes de baixa polaridade (hexano, diclorometano e clorofórmio) e correspondem a cerca de 6% do total dos extratáveis sendo os principais componentes os triterpenos como cerina, friedelina, betulina e ácido betulínico [5,7]. Neste grupo incluem-se ainda os n-alcanos, os n-alcanóis, assim como os monoácidos, diácidos e hidroxiácidos suberínicos. O outro grupo é constituído por compostos fenólicos que são extraídos através de solventes

polares (água e etanol) e correspondem a cerca de 10% do total dos extratáveis (tabela 1), sendo os principais componentes os compostos fenólicos simples como fenóis, ácidos benzóicos e ácidos cinâmicos e os compostos fenólicos poliméricos como taninos [5,7,12]. Dentro dos compostos fenólicos simples o que se encontra em maior abundância é o ácido elágico seguido pelo ácido 3,4-dihidroxibenzóico, o ácido vanílico e o ácido gálico [13]. Em relação aos compostos fenólicos poliméricos estes podem ser divididos em taninos hidrolisáveis e taninos condensáveis [5]. Os taninos hidrolisáveis são constituídos por ésteres do ácido gálico e por esterres do ácido elágico, ambos geralmente ligados à glucose. Os taninos condensáveis são constituídos pelas proantocianidinas tendo como principais componentes as catequinas e as leucoantocianidinas. Os componentes inorgânicos são englobados no que geralmente se designa como “cinzas” pois são os resíduos que sobram após a incineração da cortiça e correspondem a cerca de 1% da constituição da parede celular da cortiça [5, 8]. O cálcio é o componente inorgânico mais abundante sendo que o fósforo, o sódio, o potássio e o magnésio também apresentam valores significativos [5].

Os canais lenticulares apresentam uma constituição diferente da própria cortiça pois são constituídos por cerca de 47% de lenhina, 32% de componentes extratáveis polares, 21% de polissacarídeos e 8% de suberina, tornando as células mais rígidas, com paredes mais espessas e potenciando a absorção de água [5].

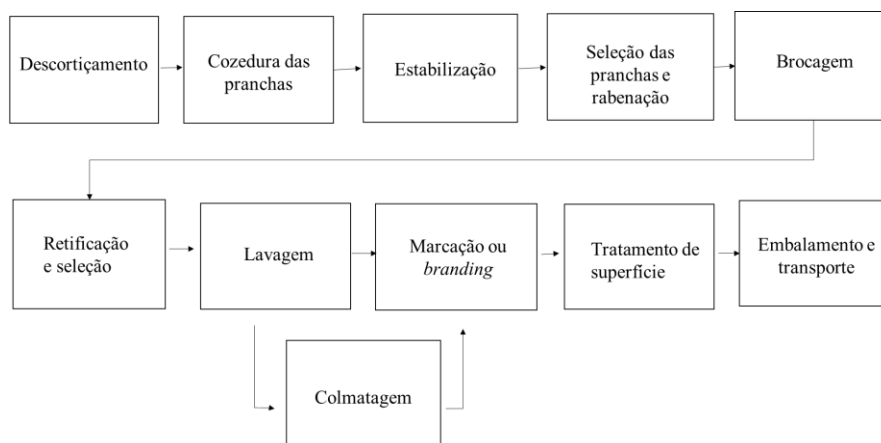
**Tabela 1:** Principais componentes químicos presentes da cortiça da *Quercus Suber L.* (em percentagem de componentes totais) [7].

Parâmetro químico	Média	Gama	Desvio padrão
% de peso seco da cortiça			
Extratáveis, total	16,2	32,9-8,6	3,9
Diclorometano	5,8	7,4-3,5	0,8
Etanol	5,9	22,0-1,7	3,0
Água	4,5	11,2-1,0	1,6
Suberina, total	42,8	54,2-23,1	6,2
Lenhina, total	22,0	36,4-17,1	3,3
Composição de monossacarídeos, % de açúcares neutros totais			
Glucose	46,1	53,6-41,8	3,6
Xilose	25,1	31,7-21,4	3,7
Arabinose	18,0	24,4-12,7	3,0

#### 1.4 Processo de produção de rolhas de cortiça naturais e aglomeradas/microaglomeradas e técnicas (1+1)

Para que se dê início ao ciclo de vida da cortiça enquanto matéria prima, isto é, para que um tronco de sobreiro comece a produzir cortiça rentável para a produção de rolhas, denominada de cortiça amadia, são necessários 25 anos [5]. A partir daí a extração da cortiça do sobreiro é realizada de 9 em 9 anos sem danificar a árvore [14].





O processo de produção de rolhas naturais e de rolhas naturais colmatadas está esquematizado na figura 3. A empresa PrecisionElite apenas opera no acabamento das rolhas, isto é, a partir da fase de seleção, sendo que os passos de lavagem e colmatagem são feitos numa empresa externa.



**Figura 3:** Processo de produção de rolhas de cortiça naturais e naturais colmatadas.

A indústria corticeira possui uma gama variada de rolhas de cortiça, disponíveis em inúmeros calibres e formatos de modo a adaptarem-se a toda a diversidade de garrafas e a todo o tipo de vinho [17]. As rolhas de cortiça utilizadas na PrecisionElite são classificadas nas seguintes categorias: rolha natural, rolha natural colmatada, rolha técnica (1+1) e rolha aglomerada/ microaglomerada. Na tabela 2 podemos verificar o aspeto visual de cada uma, a sua descrição e para que bebidas são destinadas [2]. As rolhas podem ser produzidas em diferentes calibres sendo os mais comuns para as rolhas naturais: 49 x 24 mm (comprimento x diâmetro), para as rolhas aglomeradas/microaglomeradas: 44 x 24,4 mm e para as rolhas técnicas (1+1): 49 x 24,4 mm. Os seus processos de produção estão descritos ao longo deste capítulo.

**Tabela 2:** Tipos de rolhas de cortiça produzidas na PrecisionElite e respectivas características.

Tipo de rolha	Aspeto visual	Descrição	Utilização
Rolha natural		Fabricada por brocagem a partir de uma peça de cortiça única	Vinhos com elevada qualidade que necessitem de estagiar na garrafa
Rolha natural colmatada		Rolha natural que sofre o processo de colmatagem: as lenticelas são preenchidas com pó de cortiça	Vinhos de consumo entre 2 a 6 anos
Rolha aglomerada/microaglomerada		Fabricada por moldagem e constituída por um corpo de granulos da cortiça provenientes de subprodutos de cortiça	Vinhos para um consumo máximo de 2 anos
Rolha técnica (1+1)		Rolha aglomerada/microaglomerada que contém discos de cortiça natural colada nos dois topos	Vinhos destinados a consumo de 2 a 3 anos

Antes da transformação industrial da cortiça ocorre o descortiçamento que é a sua remoção do sobreiro e a compressão das pranchas de cortiça ao ar livre [14]. O descortiçamento da cortiça pode ser designado por recolha quando diferentes classes de rolhas de cortiça, que dão origem a diferentes lotes, provêm do mesmo campo de sobreiros e do mesmo ano de descortiçamento. O primeiro passo da transformação industrial da cortiça em rolhas é a cozedura das pranchas de cortiça. De seguida é necessário que ocorra a estabilização que tem como objetivo obter a consistência necessária e um teor de humidade homogêneo para a transformação em rolhas. Após o período de estabilização faz-se uma seleção das pranchas no qual os bordos são preparados e as arestas aparadas para que haja uma separação das pranchas por classes de qualidade com base na espessura, porosidade e aspeto. Depois desta seleção, as pranchas de cortiça são cortadas em tiras com uma largura ligeiramente superior ao comprimento da rolha a fabricar – processo denominado de rabaneação. De seguida, as tiras de cortiça são perfuradas e são obtidas rolhas cilíndricas de acordo com os limites dimensionais desejados através do processo de brocagem. Após este processo segue-se a retificação que assegura as dimensões finais

previamente especificadas e regulariza a superfície das rolhas. A seleção das rolhas já é realizada na empresa PrecisionElite, as rolhas acabadas são separadas por classes e defeitos, sendo que a determinação de cada classe é feita por controlo automático, seleção ótica da superfície da rolha ou por escolha visual e manual por pessoas experientes. A classe visual das rolhas de cortiça é definida através da dimensão e quantidade dos canais lenticulares existentes à sua superfície definindo por isso a qualidade de cada rolha [15,16]. As que têm melhor qualidade apresentam uma menor quantidade de canais lenticulares e por isso uma superfície mais uniforme e têm maior valor económico [15]. Na indústria corticeira existe uma classificação baseada nos critérios visuais (ordem decrescente de qualidade): flor, extra, superior, 1º, 2º, 3º, 4º, (figura 4) sendo que as classe 5º e 6º surgem apenas (geralmente) nas rolhas naturais colmatadas [2]. A classificação é um parâmetro subjetivo uma vez que varia entre cada produtor [5]. Assim, esta faz-se com base numa amostra de rolhas acordada entre produtor e o cliente, amostra essa que servirá de padrão de referência para a execução das encomendas.



**Figura 4:** Rolhas de cortiça de diferentes classes, da esquerda para a direita: flor, extra, superior, 1º, 2º, 3º, 4º.

Após a seleção, procede-se à lavagem das rolhas utilizando peróxido de hidrogénio que tem como objetivo limpar e desinfetá-las. No entanto, este processo requer um controlo rigoroso uma vez que este composto oxidante é capaz de provocar uma oxidação demasiado forte, tanto no interior da rolha, alterando a estrutura lenhificada de suporte, como no exterior, destruindo os ácidos gordos e as ceras que são componentes essenciais para o efeito vedante da cortiça [17]. A PrecisionElite utiliza dois tipos de lavagem: nature e standard peroxide, que se diferenciam na concentração de peróxido de hidrogénio utilizado. Após a lavagem, as rolhas ainda podem sofrer o processo de colmatagem a fim de melhorar o seu aspeto visual e o seu desempenho, dando origem às rolhas naturais colmatadas [14]. Este processo consiste em tapar os canais lenticulares com uma mistura de pó de cortiça resultante do processo de retificação das rolhas. Para a fixação do pó nas lenticelas é utilizada uma cola à base de resina natural e de borracha natural ou à base de água. Se o processo de colmatagem não ocorrer, são obtidas rolhas naturais. As rolhas

naturais e naturais colmatadas podem receber um tratamento de revestimento à base de resina que permite uma igualização e homogeneização da cor das rolhas de cortiça igualando as tonalidades entre a superfície e os canais lenticulares. Nas rolhas naturais colmatadas, este revestimento reforça a película do produto de colmatagem [18]. Na PrecisionElite as rolhas naturais são revestidas sob pedido de cliente e as rolhas naturais colmatadas são todas revestidas. As rolhas naturais ou naturais colmatadas seguem para o passo seguinte: marcação ou branding. Esta operação é realizada de acordo com as indicações do cliente e é aplicada por marcação a fogo ou por impressão a tinta (de qualidade alimentar). Após esta fase, a superfície da rolha recebe um tratamento à base de parafina e silicone com o objetivo principal de obter um nível de lubrificação adequado para facilitar a sua introdução na garrafa e a sua posterior extração pelo consumidor final [2,17]. O tipo de tratamento a aplicar nas rolhas e a sua dosagem dependem do tipo de vinho, do tipo de garrafa, do tempo de estágio e do tipo de máquina de engarrafamento [2]. Por fim as rolhas são embaladas em sacos plásticos sob uma atmosfera de anidrido sulfuroso que impede o desenvolvimento microbológico e depois são transportadas até aos engarrafadores [14].

Durante o processo de produção da rolha de cortiça são produzidos subprodutos como granulados de cortiça que permitem a produção rolhas de cortiça aglomeradas/microaglomeradas e rolhas técnicas (1+1) através do processo de moldagem [14]. Após a obtenção de grânulos, estes vão para máquinas de trituração a fim de se obter um conjunto de dimensões homogêneas e posteriormente são colados com uma cola de poliuretano de qualidade alimentar aprovada pela FDA. A partir daqui o processo de transformação inicia-se no passo da retificação (figura 3). Para a produção de rolhas técnicas (1+1) é necessária a produção de discos de cortiça natural que são obtidos a partir das pranchas de cortiça e são utilizados para colocar nos topos da rolha. O processo de produção do corpo da rolha é igual ao processo das rolhas aglomeradas/ microaglomeradas. Por fim os discos e os corpos aglomerados são introduzidos em máquinas de montagem, colados com uma cola de qualidade alimentar aprovada pela FDA, são secos e prosseguem para o restante processo de transformação a partir da fase de retificação.

### 1.5 Parâmetros físico-químicos e sensoriais analisados em rolhas de cortiça

A adoção pela indústria de cortiça do Código Internacional das Práticas Rolheiras (CIPR) permitiu nivelar a qualidade em todo o setor. O Systecode (sistema de certificação de empresas) permitiu certificar o cumprimento das regras estipuladas pelo CIPR assim como implementar um conjunto de normas assentes na prevenção da formação de TCA [2].

As rolhas de cortiça são utilizadas como vedante das garrafas de vinhos devido às suas propriedades físicas e químicas e a todas as vantagens inerentes às suas propriedades aliam-se também a sustentabilidade e respeito pelo meio ambiente. [14]. É necessária uma avaliação rigorosa dos parâmetros físicos, químicos e sensoriais das rolhas de cortiça com vista a contribuir para o controlo de qualidade. O controlo de qualidade é um sistema adotado por várias organizações de diferentes segmentos para definir padrões em procedimentos, políticas e ações, de forma uniforme, garantindo que, uma vez definidos, são cumpridos através de normas [19]. Os parâmetros analisados e os ensaios realizados nas rolhas de cortiça na PrecisionElite estão descritos na tabela 3.

**Tabela 3:** Parâmetros físico-químicos e sensoriais analisados nas rolhas de cortiça na PrecisionElite.

Parâmetros	Ensaios
<b>Físico-químicos</b>	Determinação da capilaridade
	Determinação da estanquidade/ comportamento à vedação líquida
	Determinação da força de extração
	Determinação do teor de humidade
	Determinação da resistência à água fervente
	Determinação das dimensões (comprimento e diâmetro), ovalização e massa volúmica
	Determinação do teor de peróxido de hidrogénio
	Determinação do teor de resíduos sólidos (quantificação de pó)
<b>Sensoriais</b>	Quantificação de haloanisóis
	Análise sensorial

#### 1.5.1 Parâmetros físico-químicos

Após o tratamento de superfície das rolhas de cortiça com parafina fica garantida uma menor absorção de líquido, impedindo que haja absorção por efeito de capilaridade [2]. No entanto a absorção de líquido pode ocorrer através das lenticelas e por difusão através das células da parede celular da cortiça [5,20]. A determinação da capilaridade tem como objetivo verificar a capacidade da rolha de cortiça em absorver a solução

hidroalcoólica à superfície. O método baseia-se na colocação de um dos topos da rolha de cortiça numa solução hidroalcoólica corada com azul de metileno, com teor alcoólico idêntico ao vinho a engarrafar. Os topos ficam em contacto com a solução corada durante 24 horas. Após este período verifica-se se houve progressão da solução hidroalcoólica corada na superfície da rolha. Este ensaio é realizado em amostras de todos os lotes prontos a ser expedidos, após as rolhas de cortiça terem recebido o tratamento de superfície. A progressão à superfície da rolha da solução hidroalcoólica corada definida internamente pela PrecisionElite, tem de ser  $\leq 1$  mm e a tabela da amostragem encontra-se no anexo I.

A rolha após ser introduzida na garrafa fica sujeita à pressão dos compostos voláteis do vinho. Quando as garrafas estão colocadas na posição horizontal, o vinho exerce na rolha a pressão resultante dos seus compostos voláteis, podendo alterar o desempenho de vedação da rolha [4]. O objetivo da determinação da estanquicidade/comportamento à vedação líquida é verificar se há progressão da solução hidroalcoólica corada na interface rolha-vidro, quando a solução hidroalcoólica exerce na rolha determinadas pressões. Para esta determinação, as rolhas são introduzidas num tubo de vidro (que simula um gargalo de garrafa) e é adicionada uma solução hidroalcoólica, com teor alcoólico semelhante ao vinho a engarrafar, corada com azul de metileno que fica em contacto com a rolha. De seguida, colocam-se as rolhas com a solução num equipamento denominado de árvore de vedação que permite exercer pressão sobre a solução hidroalcoólica e consequentemente sobre a rolha. Inicialmente, a solução é colocada à pressão de 0,5 bar, sendo realizada até à pressão de 2 bar. Esta determinação é realizada em amostras de lotes sob pedido de cliente, após as rolhas de cortiça receberem o tratamento de superfície. O resultado permitido pela PrecisionElite é a presença de 100% de rolhas vedantes até 1,5 bar uma vez que nesta empresa as rolhas de cortiça produzidas são destinadas a vinhos tranquilos que apresentam uma pressão, no headspace, inferior a 1 bar. A tabela da amostragem encontra-se no anexo I.

A força de extração relaciona-se com o tratamento de superfície, constituído por parafina e silicone, que as rolhas receberam [2]. As ceras de parafina são um grupo de substâncias constituídas apenas por átomos de carbono e hidrogénio com fórmula molecular  $C_nH_{2n+2}$ , sendo  $n$  superior a 17 e permitem substituir ceras e óleos que foram inevitavelmente perdidos durante o processo de transformação da cortiça em rolhas [21, 22]. A constituição da cera da parafina resulta de 75% de alcanos e 25% de iso-alcanos,



cicloalcanos e alquilbenzenos e é insolúvel em água e ácido que permite fornecer às rolhas uma capacidade de impermeabilização, não permitindo a entrada de vinho e a perda de água da rolha [2]. O silicone designa, geralmente, todos os compostos monoméricos e poliméricos que contenham ligações silício e carbono nos quais os átomos de silício estão ligados entre si através de átomos de oxigénio [23]. A sua estrutura polimérica e linear que constitui a presença de grupos orgânicos ligados a uma estrutura inorgânica permite uma combinação de propriedades únicas como a diminuição da tensão superficial entre superfícies (aumento da lubrificação) [22]. O silicone utilizado na PrecisionElite para o tratamento de superfície nas rolhas de cortiça tem como principal constituinte polidimetilsiloxano. Assim a aplicação de parafina permite impermeabilizar a rolha e a aplicação do silicone permite reduzir substancialmente a adesão entre a superfície do vidro e a da rolha de cortiça, permitindo uma fácil extração da rolha da garrafa pelo indivíduo. A determinação do valor da força de extração face à extração da rolha tem como objetivo verificar se a aplicação do tratamento de superfície foi a correta. Para esta determinação, a engarrafadora automática comprime a rolha para ser possível a sua introdução no gargalo da garrafa e, após o engarrafamento, a rolha de cortiça necessita de um certo período de tempo até exercer pressão uniforme no gargalo. Após o engarrafamento a rolha demora 5 a 10 minutos a adaptar-se ao gargalo devido às suas propriedades elásticas e de resistência à compressão, demorando cerca de 1 hora a atingir 85% das suas dimensões originais e a exercer uma força uniforme ao longo de toda a superfície do vidro [5, 2, 24]. Após 1 hora do engarrafamento, a força de extração é medida num equipamento de medição de força de extração (Extralab). A determinação da força de extração é realizada em amostras de todos os lotes expedidos, após as rolhas de cortiça terem recebido o tratamento de superfície. A força de extração face à extração da rolha, definida internamente pela PrecisionElite, tem de se apresentar entre 15-45 daN e a tabela da amostragem encontra-se no anexo I.

O teor de humidade altera as dimensões da rolha, por isso, durante o processo de brocagem e de retificação é importante que o teor de humidade esteja dentro de um intervalo específico (4-8%) para que as dimensões obtidas sejam as corretas [25]. O teor de humidade influencia significativamente a resiliência e a compressibilidade. Assim, dentro de um intervalo de humidade de 4-8%, a cortiça permanece suficientemente flexível para a inserção, isto é, tem a maleabilidade suficiente para não se desintegrar durante a compressão [5, 21]. A rolha de cortiça dentro deste intervalo de humidade também

recupera as suas dimensões de forma suficientemente lenta para permitir que alguns dos gases presentes no headspace entre o vinho e a rolha escapem antes de se desenvolver um vedante apertado [20, 21]. A níveis de humidade mais baixos (inferior a 4%), a estrutura celular da cortiça é alterada causando alterações nas propriedades de compressão e inserção [21]. Um alto teor de humidade (superior a 8%) na cortiça pode levar ao desenvolvimento de microrganismos que podem estar na origem da formação de compostos voláteis capazes de provocar defeitos de aroma nos vinho e promove o aprisionamento de mais gás no headspace, sendo este efeito causado pela presença de moléculas de água dentro das paredes celulares [21, 26, 27]. O objetivo da determinação do teor de humidade é a obtenção da percentagem de humidade presente no interior das rolhas de cortiça. A medição é realizada através de um condutivímetro de agulhas com dois elétrodos inserido no aparelho MedCork aquando a receção e a expedição das rolhas. A determinação do teor de humidade é realizada em amostras de todos os lotes expedidos, após as rolhas de cortiça terem recebido o tratamento de superfície. A percentagem de humidade em cada rolha deve encontrar-se entre  $6 \pm 2 \%$ , gama definida pelo CIRP, e a tabela de amostragem encontra-se no anexo I.

Como já foi referido, a produção de rolhas de cortiça aglomeradas/microaglomeradas e de rolhas técnicas (1+1) implica a utilização de uma cola levando a que este tipo de rolhas apresentem uma menor absorção de líquido que as rolhas naturais uma vez que as colas utilizadas constituem uma barreira para a progressão do líquido [2, 28]. Assim, para que ocorra a penetração/difusão de água nas rolhas aglomeradas/microaglomeradas e técnicas (1+1) é necessário que estas rolhas estejam sujeitas a temperaturas de 90-100°C, uma vez que Rosa *et al.* concluíram que a esta temperatura a difusão de água era maior [25]. Após a difusão da água e o aumento da temperatura, as células aumentam o seu volume e a estabilidade da cola é colocada em causa permitindo atingir o objetivo da determinação da resistência à água fervente: verificação da qualidade do plano de colagem; da agregação do aglomerado (das rolhas aglomeradas/microaglomeradas e rolhas técnicas (1+1)); e dos discos com o corpo aglomerado (das rolhas técnicas (1+1)). O método baseia-se na colocação das rolhas numa panela com água a ferver durante 1 hora. Após este período verifica-se, visualmente, a qualidade da colagem: a existência de desagregação do aglomerado e a existência de aberturas totais ou parciais nos planos de colagem. Na PrecisionElite, a determinação da

resistência à água fervente é realizada em amostras de todos os lotes rececionados de rolhas técnicas (1+1) e em amostras de lotes rececionados de rolhas aglomeradas/microaglomeradas sob pedido do cliente. O critério de aceitação pela PrecisionElite é a apresentação de 2% de descolagens parciais, totais e desagregação do plano. A tabela da amostragem encontra-se no anexo I.

As dimensões das rolhas de cortiça são definidas pelo cliente e dependem do tipo de vinho a engarrafar e da duração e condições de transporte [2]. A ovalização assegura a forma cilíndrica das rolhas a fim de evitar fugas do vinho, sendo que as rolhas obtidas por moldagem apresentam uma ovalização menor do que as obtidas pelo processo de brocagem [2]. A massa volúmica relaciona-se com o tipo e com as propriedades de compressão das rolhas. Quanto maior a densidade, maior a resistência à compressão e consequentemente menor será a elasticidade da rolha [2,29]. A determinação das dimensões (comprimento e diâmetro), ovalização e massa volúmica tem como objetivo assegurar que as especificações das rolhas de cortiça definidas pelo cliente são cumpridas. Estes parâmetros são analisados num único aparelho: MedCork, através da utilização de uma mesa comparadora automática e de uma balança e são determinados em amostras de todos os lotes expedidos após receberem o tratamento de superfície. O critério de aceitação para as rolhas naturais para o comprimento é  $\pm 0,7$  mm, para o diâmetro é  $\pm 0,5$  mm e para a ovalização é  $< 0,7$  mm. Para as rolhas aglomeradas/microaglomeradas e técnicas (1+1) o critério de aceitação para o comprimento é  $\pm 0,5$  mm, para o diâmetro é  $\pm 0,3$  mm e para a ovalização é  $< 0,5$  mm. Em relação à massa volúmica, os critérios para cada tipo de rolha variam, sendo que para rolhas naturais: 120-220 Kg/m<sup>3</sup>, rolhas colmatadas/naturais revestidas: 120-270 Kg/m<sup>3</sup>, rolhas aglomeradas/microaglomeradas: 200-280 Kg/m<sup>3</sup> e rolhas técnicas (1+1): 240-300 Kg/m<sup>3</sup>. Estes parâmetros são definidos pela empresa PrecisionElite e a tabela da amostragem encontra-se no anexo I.

As rolhas de cortiça sofrem um processo de lavagem onde é utilizado peróxido de hidrogénio que permite a eliminação dos grupos cromóforos na sua superfície conferindo a cor desejada à rolha de cortiça consoante a exigência do cliente [31]. Possibilita também, a eliminação de microrganismos que possam estar na origem dos clorofenóis, induzir a degradação de fenóis da superfície das rolhas e reduzir o seu potencial envolvimento na produção de TCA [2, 21, 30]. Os intervenientes principais para a lavagem, feitos na empresa externa são: o agente oxidante (peróxido de hidrogénio), o catalisador (hidróxido

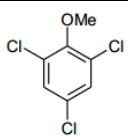
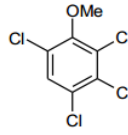
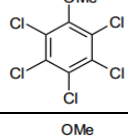
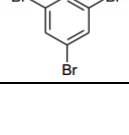
metálico ionizado) e compostos para a neutralização ácida (bissulfato de sódio e ácido cítrico) [31]. Na presença de iões metálicos de transição o  $\text{H}_2\text{O}_2$  está em equilíbrio com o anião hidroperóxido ( $\text{HO}_2^-$ ), um nucleófilo forte que é a espécie ativa que reage com os grupos cromóforos da lenhina [31, 32]. No branqueamento com  $\text{H}_2\text{O}_2$  existem duas reações principais que competem entre si: (1) a reação entre o anião hidroperóxido e os grupos cromóforos presentes na lenhina, que levam à alteração da coloração da cortiça; (2) degradação oxidativa das estruturas fenólicas da lenhina causada pelos produtos de decomposição do peróxido de hidrogénio. Para obter o máximo de eficiência do  $\text{H}_2\text{O}_2$  como agente de branqueamento, é necessário controlar a sua decomposição para minimizar a degradação da lenhina da cortiça [32]. Este controlo é feito através de neutralizadores ácidos como o ácido cítrico e o bissulfato de sódio [31,32]. Após a conclusão deste processo ficam resíduos de peróxido de hidrogénio nas rolhas que posteriormente podem afetar a qualidade do vinho [33]. O ensaio da determinação do teor de peróxido de hidrogénio tem como objetivo a medição da sua concentração nas rolhas de cortiça. O método utilizado para esta determinação consiste na extração do peróxido de hidrogénio das rolhas de cortiça através de uma solução de ácido acético. Posteriormente, a concentração é determinada através de kit de peróxidos: tiras reativas para determinação semiquantitativa que tem como princípio a transferência, através da peroxidase, do oxigénio do peróxido para um indicador de oxidação-redução orgânico, que é convertido num produto de oxidação azul [34]. Consoante a tonalidade obtida na tira, esta é relacionada com as tonalidades padrão presentes na embalagem que correspondem a determinadas concentrações de peróxido de hidrogénio. A determinação do teor de peróxido de hidrogénio é realizada em 3 rolhas/lote de todos os lotes recebidos sendo o valor permitido pela empresa PrecisionElite inferior a 0,2 mg/rolha.

As práticas de segurança e higiene implementadas nas fábricas de produção de rolhas de cortiça, a lavagem e o tratamento de superfície das rolhas de cortiça limitam a presença de resíduos sólidos enquanto produto final. No entanto, quando os resíduos sólidos estão presentes podem ter impacto negativo no seu aspeto e posteriormente no desempenho dos equipamentos na linha de engarrafamento e na própria força de extração da rolha [35]. O objetivo da determinação do teor de resíduos sólidos (quantificação de poeiras) é quantificar o pó libertado das rolhas de cortiça após o tratamento da superfície. O método baseia-se na colocação das rolhas numa solução hidroalcoólica com teor alcoólico idêntico

ao vinho a engarrafar e posteriormente por filtração a vácuo, é calculada a quantidade de pó libertada das rolhas de cortiça. A determinação de resíduos sólidos é realizada sob pedido de cliente em amostras de lotes após receberem o tratamento de superfície. O valor permitido pela empresa PrecisionElite é inferior a 2 mg/ rolha e a tabela da amostragem encontra-se no anexo I.

O teor em álcool, tipicamente entre 8 e 13% (v/v) e o pH entre 3 e 4 tornam o vinho uma solução de extração, ocorrendo a migração de compostos da cortiça para o vinho [21]. Uma das características da cortiça é apresentar alguma permeabilidade ao vapor de água e a outras moléculas em estado de vapor. Assim, os compostos voláteis, sejam metabolitos ou contaminantes ambientais, penetram através dos “buracos da estrutura celular” e são adsorvidos pela superfície interna da cortiça. A posterior difusão destes compostos da cortiça para o vinho está condicionada pela pressão de vapor dos compostos adsorvidos. A rolha, ao ser introduzida no gargalo da garrafa sofre uma compressão, que irá aumentar a pressão das substâncias gasosas dentro das células permitindo a sua migração para o vinho mais facilmente. Os principais compostos que induzem defeitos de aroma no vinho provocados pela cortiça são os haloanisóis: os cloroanisóis como: 2,4,6-tricloroanisol (TCA), o 2,3,4,6-tetracloroanisol (2,3,4,6-TeCA), o pentacloroanisol (PCA) e o bromoanisol: 2,4,6-tribromoanisol (2,4,6-TBA) (tabela 4) [3, 36 - 41].

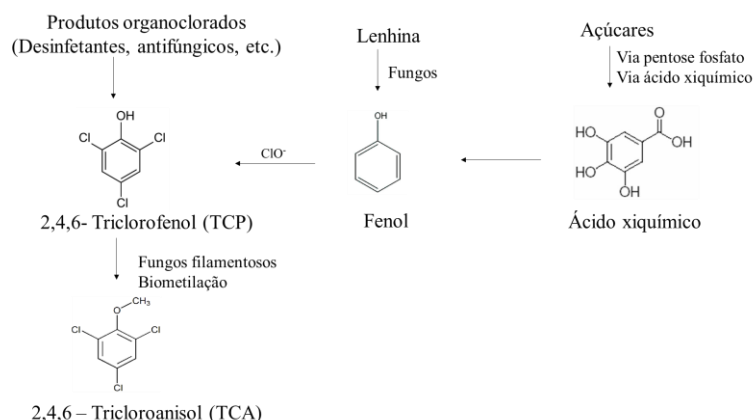
**Tabela 4:** Limiar de percepção sensorial e descritores de aroma dos haloanisóis relacionados com defeitos de aroma em vinhos associados à cortiça [36- 41].

Composto	Estrutura química	Limite de percepção sensorial	Descritor de aroma
TCA		Em água: 0,3 ng/L - 0,8 ng/L Em solução alcoólica (vinho): 1,5 ng/L	Bolor da cortiça
2,3,4,6-TeCA		Em água: 4 ng/L Em solução alcoólica (vinho): 10-15 ng/L (branco e tinto) e 5 ng/L (vinhos espumantes)	Mofo
PCA		Em água: > 50 000 ng/L	Mofo
2,4,6-TBA		Em água: 0,008 ng/L - 0,03 ng/L Em solução alcoólica (vinho): 3,4 ng/L	Mofo

O aparecimento de 2,4,6-triclorofenol e a sua conversão em 2,4,6-tricloroanisol na rolha de cortiça está esquematizado na figura 5 e pode ocorrer através de três processos:

1. Rigaud *et al.*, demonstraram que é possível existir tricloroanisóis e pentacloroanisóis em pranchas de cortiça antes da transformação em rolhas, cuja origem está nos tratamentos antifúngicos realizados no campo dos sobreiros com produtos que englobam na sua constituição clorofenóis [42]. Logo, a utilização de produtos que tem na sua constituição cloro, como desinfetantes industriais, inseticidas e herbicidas podem apresentar naturalmente clorofenóis que contaminam a cortiça [3];
2. A partir da lenhina em que esta é degradada em compostos fenólicos por fungos que podem estar presentes na cortiça [41]. Os compostos fenólicos quando em contacto com compostos clorados provenientes do branqueamento durante o processo de transformação da cortiça ou provenientes de desinfetantes industriais dão origem a clorofenóis [43];
3. Os clorofenóis podem ser formados por diferentes vias metabólicas [44]. A glucose existente na cortiça sofre reações pela via pentose fosfato e pela via do ácido xiquímico dando origem aos fenóis. Uma vez mais os fenóis na presença de compostos clorados dão origem a clorofenóis.

A conversão de 2,4,6-triclorofenol em 2,4,6-tricloroanisol através da enzima clorofenol o-metiltransferase presente em fungos filamentosos como *Trichoderma longibrachiatum* é a única origem cientificamente provada [3]. Os clorofenóis como o TCP são altamente tóxicos para os fungos filamentosos. Estes compostos são lipossolúveis e podem atravessar a parede celular e a membrana citoplasmática do fungo reagindo com as suas proteínas ou com o seu DNA prejudicando irreversivelmente o seu metabolismo. Como sistema de desintoxicação, os fungos produzem a enzima clorofenol o-metiltransferase que converte o TCP em TCA. O TCA é um composto inofensivo para o fungo, é segregado das células e dado o seu caráter volátil é rapidamente absorvido pela cortiça: local onde os fungos filamentosos se desenvolvem.



**Figura 5:** Mecanismos de formação de 2,4,6-triclorofenol que exemplificam a via de formação do 2,4,6-tricloroanisol.

O objetivo da quantificação de haloanisóis é quantificá-los no macerado das rolhas de cortiça uma vez que a maceração permite a extração dos compostos voláteis da cortiça para a solução [45]. Na empresa PrecisionElite, esta extração é realizada através da imersão das rolhas num frasco com vinho branco com teor alcoólico de 12% (v/v) durante 24 horas. O princípio químico é o mesmo que ocorre na análise sensorial que será explicado posteriormente. Depois, a quantificação é realizada num laboratório externo através do método SPME-GC-MS. Este método trata-se da combinação de técnica de micro extração em fase sólida (SPME) com a cromatografia em fase gasosa (GC) adotando preferencialmente a deteção por espectrometria de massa (MS), sendo também possível o uso de outros sistemas de deteção altamente sensíveis como a captura de eletrões (ECD) [2]. O laboratório externo fornece as concentrações de 2,4,6-tricloroanisol, 2,3,4,6-tetracloroanisol, 2,4,6-tribromoanisol e pentacloroanisol. Na PrecisionElite, a análise sensorial das rolhas naturais é realizada anteriormente à quantificação de haloanisóis uma vez que esta é aplicável a amostras de lotes de rolhas naturais quando apresentam um resultado da análise sensorial que coloca em dúvida a qualidade sensorial da rolha, ou seja, quando é detetada uma percentagem superior a 2% e inferior a 4% de rolhas contaminadas, sendo estas percentagens dependentes da qualidade da rolha e do cliente. Por sua vez a quantificação de haloanisóis é realizada a amostras de todos os lotes rececionados de rolhas aglomeradas/microaglomeradas e técnicas (1+1). A concentração máxima admissível de haloanisóis, na PrecisionElite, é 2 ng/L e esta quantificação é realizada a 20 rolhas por lote, independentemente do seu tamanho.

### 1.5.2 Parâmetros sensoriais

A identificação de compostos voláteis naturalmente presentes na cortiça é bastante importante uma vez que estes compostos apresentam aromas característicos que mais tarde passam para o vinho alterando as suas características organoléticas [46, 47]. No entanto esta alteração é dependente da concentração de cada composto volátil assim como do seu descritor de aroma. A maioria dos compostos voláteis identificados apresenta um aroma característico (descritor de aroma) a partir de uma dada concentração (limite de percepção sensorial). Na tabela 5 estão representados alguns dos compostos voláteis identificados na cortiça considerada normal, agrupados de acordo com a respetiva classe química, o seu descritor de aroma e o limite de percepção sensorial em água ou vinho [48, 49].

**Tabela 5:** Compostos voláteis identificados na cortiça (normal), respetivos descritores de aroma e limites de percepção sensorial [48 - 49].

Classe química	Composto	Descritor de aroma	Limite de percepção sensorial em vinho ou *água
<b>Terpenóides</b>	Borneol	Pimenta	-
	Isoborneol	Cânfora	-
	Limoneno	Frutado	60 µg/L *
	Linalol	Floral	100 µg/L*
	α-Terpeniol	Floral	280 µg/L*
<b>Álcoois alifáticos</b>	3-Metil-1-butanol	Whisky	300 mg/L
	1-Octen-3-ol	Cogumelo	50 mg/L
	1-Octanol	Cera	-
	1-Hexanol	Herbáceo	5 mg/L
<b>Ácidos alifáticos</b>	Ácido 3-metilbutanóico	Ranço	700 µg/L
	Ácido octanóico	Cera, gordura	15 mg/L
<b>Compostos aromáticos</b>	Álcool benzílico	Frutado	-
	Benzaldeído	Amêndoa amarga	3 mg/L
	Guaiacol	Fumo, madeira	20 µg/L
	Vanilina	Baunilha	100 µg/L*
<b>Furanos</b>	Furfural	Caramelo	65 mg/L
	5-Metilfurfural	Tostado	35 mg/L
<b>Compostos carbonílicos alifáticos</b>	Decanal	Mofo, marinho, pepino	-
	Hexanal	Verde, erva	4,5 mg/L
	2-Nonenal	Metálico, oleoso	-
	2-Undecanona	Rosa, citrino	-
<b>Outros</b>	Benzotiazol	Borracha	-



Entre os compostos voláteis com aroma encontram-se: os terpenóides que foram identificados na fração dos compostos extratáveis; os álcoois alifáticos; os ácidos alifáticos que resultam da degradação da suberina composta por ácidos de cadeia longa C16-C26; os aldeídos e cetonas que provêm dos ácidos gordos saturados e não saturados que podem sofrer degradação por auto oxidação ou pela atividade da lipoxigenase e formar compostos carbonilos voláteis [5, 48-51]. A degradação térmica da lenhina ou a sua degradação através de microrganismos e a degradação da componente polifenólica da suberina, dão origem a compostos fenólicos [49, 52-54]. Os níveis de furanos nas rolhas de cortiça relacionam-se com os níveis de açúcares livres uma vez que a presença destes compostos está normalmente associada à ocorrência de reações de degradação de açúcares (do tipo reação de Maillard) por ação da temperatura no processo de transformação industrial da cortiça (cozedura, autoclavagem e secagem) [48, 55, 56].

Outros compostos de aroma podem estar presentes na cortiça, contudo, não sendo intrínsecos ao material, são alguns contaminantes capazes de provocar defeitos de aroma nos vinhos [48]. Um composto volátil capaz de provocar defeitos de aroma nos vinhos associado à cortiça descrito por Simpson *et al.* é a 2-metoxi-3,5-dimetilpirazina [57]. O seu limite de perceção sensorial em vinho branco é 2,1 ng/L e em é de 0,4 ng/L com aroma desagradável a mofo e/ou terroso [57, 58]. Segundo Chatonnet *et al.* a 2-metoxi-3,5-dimetilpirazina tem origem bacteriana e é biossintetizada pela bactéria *Rhizobium excellensis* em culturas suplementadas com os aminoácidos L-leucina, L-alanina, L-valina e a fenilalanina [59]. A geosmina é outro composto detetado e produzido na cortiça que contribui para um aroma a terra e a mofo no vinho e é um metabolito resultante da atividade de fungos e bactérias gram-positivas [16, 60, 61]. Darriet *et al.* identificaram a geosmina em diferentes vinhos franceses e argelinos e definiram que o limite de perceção sensorial é inferior a 10 ng/L em água, 80-90 ng/L em vinhos tintos e 60-65 ng/L em vinhos brancos [60, 62]. Guerche *et al.* verificaram que o 2-metilisoborneol está presente no mosto das uvas mas não está presente nos vinhos correspondentes indicando que o composto não é estável durante a fermentação alcoólica, levando a colocar a hipótese que a presença deste composto provém das rolhas de cortiça utilizadas como vedantes nas garrafas de vinho [35, 63]. Este composto é metabolito de algumas espécies de *Penicillium* e de *Streptomyces* e o seu limite de perceção sensorial é de 12 ng/L em água e 45 ng/L em vinho tinto [63-65]. O guaiacol, apesar de ser um composto que faz parte da fração volátil

da cortiça normal, também pode ser produzido por microrganismos [48, 66]. Álvarez-Rodríguez *et al.* detetaram a produção de guaiacol a partir do ácido vanílico por espécies bacterianas de *Bacillus* e de *Streptomyces* isoladas a partir da rolha de cortiça [66]. Simpson *et al.* definiram o seu limite de perceção sensorial para 0,02 mg/L em vinho branco apresentando um aroma de fumo e fenólico [67].

A presença de contaminantes voláteis na rolha de cortiça é uma das principais causas responsáveis pelas perdas económicas que ocorrem nas indústrias vinícola e consequentemente, na indústria corticeira, uma vez que, quando em contacto com o vinho provocam defeitos de aroma, tal como o “gosto a rolha” [3, 16, 68]. Embora os microrganismos que produzem compostos voláteis nas rolhas de cortiça sejam as principais fontes de contaminação do vinho, Barker *et al.* demonstraram que existem outros agentes ou vetores de contaminação presentes no transporte e no armazenamento dos vinhos engarrafados, que também podem ser responsáveis pela contaminação [46]. Numa tentativa de sistematizar todos os contaminantes associados a defeitos de aroma no vinho provocados pela rolha de cortiça, de clarificar o significado do “gosto a rolha” no vinho e de normalizar a terminologia utilizada para a descrição de aromas dos resultados obtidos em ensaios de análise sensorial, foi elaborada uma roda de aromas da cortiça (representada na figura 6) [2, 37]. Nesta roda, os descritores de aromas são agrupados em famílias que originaram cinco grupos principais: musgo, químico, vegetal, conífero e bolor. Estes descritores de aromas podem ser associados a compostos químicos voláteis presentes na cortiça (como os que estão descritos na tabela 5).



**Figura 6:** Roda dos aromas da cortiça [37].

Vários compostos podem ser responsáveis pela ocorrência do “gosto a rolha” no vinho, resultando muitas vezes da ação cumulativa dos mesmos [17]. Geralmente este “gosto a rolha” é atribuído ao TCA devido ao seu baixo limite de percepção sensorial. Por sua vez a concentração de cada composto volátil ou a concentração resultante da ação sinérgica de diferentes compostos para induzir alterações organoléticas no vinho depende do tipo de vinho assim como das castas de uvas intervenientes, do tempo de envelhecimento e do teor em álcool [2,33].

Os primeiros parâmetros de qualidade das rolhas de cortiça a serem avaliados, na PrecisionElite, são os parâmetros sensoriais. A verificação da presença de compostos voláteis capazes de provocar defeitos de aroma nos vinhos nas rolhas de cortiça, através da análise sensorial, tem como consequência a aceitabilidade do lote por parte da empresa. O primeiro passo para a organização de uma análise sensorial é a determinação do objetivo do projeto e a determinação de um objetivo específico [69]. A análise sensorial das rolhas de cortiça, na PrecisionElite, tem como objetivo garantir a qualidade do produto sendo que o objetivo específico é estudar as características sensoriais das rolhas de cortiça a fim de avaliar a aceitabilidade das rolhas compradas pela PrecisionElite. As amostras analisadas na análise sensorial, por maceração, são as rolhas naturais e naturais colmatadas. As rolhas técnicas (1+1) e aglomeradas/ microaglomeradas são constituídas por cola, o que dificulta a identificação de aromas e a atribuição da sua intensidade. De seguida é necessário o planeamento do teste sensorial a efetuar [69]. A análise sensorial a rolhas de cortiça faz-se de acordo com a ISO 22308, sendo que cada empresa deve adaptar-se de forma a tornar esta análise o mais eficaz possível [70]. O método consiste em detetar, identificando e avaliando os odores da solução onde as rolhas de cortiça foram mergulhadas. A solução é um simulador de contacto que pode ser água destilada e organoleticamente neutra, vinho branco ou solução hidroalcoólica com teor alcoólico semelhante ao tipo de bebida a engarrafar, sendo para vinhos tranquilos aproximadamente 12% (v/v) [71]. Quando as rolhas estão imersas em qualquer uma destas soluções, as moléculas de água ou de etanol que penetram na rolha vão competir com os compostos voláteis para os mesmos locais de adsorção favorecendo a sua passagem para o exterior [45]. Os compostos voláteis presentes na rolha tentam alcançar o equilíbrio, sendo por isso transferidos para a solução e posteriormente podem ser avaliados sensorialmente e analiticamente por cromatografia de fase gasosa. Este equilíbrio é alcançado ao fim de 24 horas [45,72]. A abordagem utilizada

na PrecisionElite para a realização da análise sensorial é o método descritivo, mais concretamente o perfil de escolha livre. O método perfil de escolha livre permite que os membros do painel usem o seu próprio vocabulário para descrever e quantificar os atributos de um produto e baseia-se no pressuposto de que os participantes não diferem nas suas percepções sensoriais mas na maneira de como as descrevem [73]. No final, o painel tem de chegar a um consenso e atribuir um significado único a cada conceito expresso de forma diferente pelo provador. No caso das rolhas de cortiça, na PrecisionElite, é realizada uma análise sensorial ao aroma. O painel avalia o aroma sentido atribuindo descrições de odor tendo em conta uma lista de atributos (roda de aromas da cortiça) ou de padrões e a magnitude da diferença sensorial que encontra entre eles. O ensaio é conduzido por um provador treinado de forma a garantir resultados mais fiáveis, é realizado no laboratório da empresa e demora cerca de 15-30 minutos. Por fim, é necessário a análise dos dados e a sua interpretação [69]. Nos dados obtidos na análise sensorial das rolhas de cortiça constam: a descrição da amostra nomeadamente o seu calibre, o tipo e classe da rolha; o número total de frascos, o número de rolhas por frasco; e a matriz utilizada (solução utilizada para encher os frascos). Nos resultados são descritos o número dos frascos em que o aroma foi detetado, o número de rolhas que apresentaram esse aroma para obtenção da percentagem de rolhas contaminadas por lote, o descritor do aroma detetado e a sua intensidade (muito ligeiro, ligeiro, moderado, intenso, muito intenso). A sua interpretação tem como consequência a aceitabilidade do lote por parte da PrecisionElite. Esta fase é bastante subjetiva uma vez que depende da classe das rolhas em análise, da intensidade de aroma sentido, da percentagem de rolhas contaminadas por lote e do cliente para o qual se destinam as rolhas.

Os parâmetros sensoriais são os mais importantes uma vez que avaliam a aceitabilidade dos lotes recebidos pela PrecisionElite e comprovam a qualidade das encomendas que são expedidas, sendo por isso analisados em amostras de todos os lotes rececionados pela empresa. A percentagem de aceitação de um lote pode variar consoante os aromas detetados, a sua intensidade e do cliente para quem se destina o lote. Em caso de dúvida de aceitação, isto é, quando o lote apresenta uma percentagem de rolhas contaminadas entre 2-4% ou a pedido do cliente é realizado o macerado do respetivo lote para quantificação de haloanisóis. Na PrecisionElite são analisadas, no mínimo, 10 por cada 10 000 rolhas.

## **1.6 Objetivos do trabalho**

O estágio teve duas fases: na primeira fase foi realizada uma formação inicial que teve como objetivo conhecer o histórico da empresa, ter uma visão geral dos seus produtos e serviços assim como do seu processo de gestão de qualidade implementado e na segunda fase foi realizada uma análise detalhada do plano de inspeção e ensaios da empresa que teve como objetivo avaliar os parâmetros físico-químicos e sensoriais das rolhas de cortiça naturais (com e sem revestimento), naturais colmatadas, técnicas (1+1) e aglomeradas/microaglomeradas. Adicionalmente foram estudadas as características sensoriais entre dois tipos de rolhas de cortiça, rolhas naturais e rolhas naturais colmatadas e de rolhas de cortiça de diferentes classes provenientes de cada recolha de cortiça.

## 2. Parte experimental

### 2.1 Amostragem

No presente trabalho foram avaliados os parâmetros físico-químicos e sensoriais de rolhas de cortiça naturais sem revestimento e com revestimento, rolhas naturais colmatadas, rolhas aglomeradas/microaglomeradas e rolhas técnicas (1+1). A amostragem relativa aos ensaios de determinação da capilaridade, força de extração, teor de humidade, dimensões, ovalização, massa volúmica, teor de peróxido de hidrogénio, estanquicidade/comportamento à vedação líquida, teor de resíduos sólidos e resistência à água fervente está representada na tabela 6. A amostragem relativa à análise sensorial e à quantificação de haloanisóis está representada na tabela 7. Todos os resultados foram obtidos durante o período de outubro de 2016 a abril de 2017.

**Tabela 6:** Amostragem dos respetivos ensaios realizados. Em todos os tipos de rolhas analisados, as classes foram indiferenciadas.

Tipos de rolhas	Calibre (mm)	Nº de lotes*	Nº de rolhas	Ensaios realizados
Rolhas naturais sem revestimento	49 x 24	16	4062	Capilaridade, força de extração, humidade, dimensões, ovalização e massa volúmica, peróxido de hidrogénio.
Rolhas naturais com revestimento	49 x 24	21	9224	
Rolhas colmatadas	49 x 24	21	9023	
Rolhas aglomeradas/ microaglomeradas	44 x 24,4	20	8745	
Rolhas naturais sem revestimento	49 x 24	5	1078	Capilaridade, força de extração, humidade, dimensões, ovalização e massa volúmica, peróxido de hidrogénio, estanquicidade/comportamento à vedação líquida.
Rolhas naturais com revestimento	49 x 24	7	1283	
Rolhas colmatadas	49 x 24	7	1159	
Rolhas naturais sem revestimento	49 x 24	3	1050	Capilaridade, força de extração, humidade, dimensões, ovalização e massa volúmica, peróxido de hidrogénio, resíduos sólidos
Rolhas naturais com revestimento	49 x 24	7	1245	
Rolhas colmatadas	49 x 24	6	1003	
Rolhas aglomeradas/ microaglomeradas	44 x 24,4	3	965	
Rolhas técnicas	49 x 24,4	5	60	Resistência à água fervente

\* Um lote pode ter entre 1200 a 250 000 rolhas, sendo que o nº de rolhas analisadas por lote depende da tabela de amostragem presente no anexo I.

**Tabela 7:** Amostragem da análise sensorial e quantificação de haloanisóis. Em todos os tipos de rolhas analisados, as classes e o calibre foram indiferenciados.

Tipos de rolha	Nº de lotes*	Nº de rolhas	Ensaio realizado
Rolhas naturais	126	10421	Análise sensorial
Rolhas colmatadas	30	3605	
Rolhas naturais	32	3840	Análise sensorial e
Rolhas naturais colmatadas	7	840	quantificação de haloanisóis
Rolhas aglomeradas/ microaglomeradas	11	220	Quantificação de haloanisóis

\* Um lote pode ter entre 1200 a 250 000 rolhas, sendo que o nº de rolhas analisadas por lote depende da tabela de amostragem presente no anexo I.

Para o estudo das características sensoriais das rolhas de diferentes classes provenientes de cada recolha de cortiça, foram analisadas 24 recolhas de cortiça, num total de 63 lotes e 5400 rolhas que deram origem a diferentes classes de rolhas naturais de calibre 49 x 24 mm. Das 24 recolhas estudadas: 14 apresentaram 2 classes, 6 apresentaram 3 classes, 3 apresentaram 4 classes e 1 apresentou 5 classes.

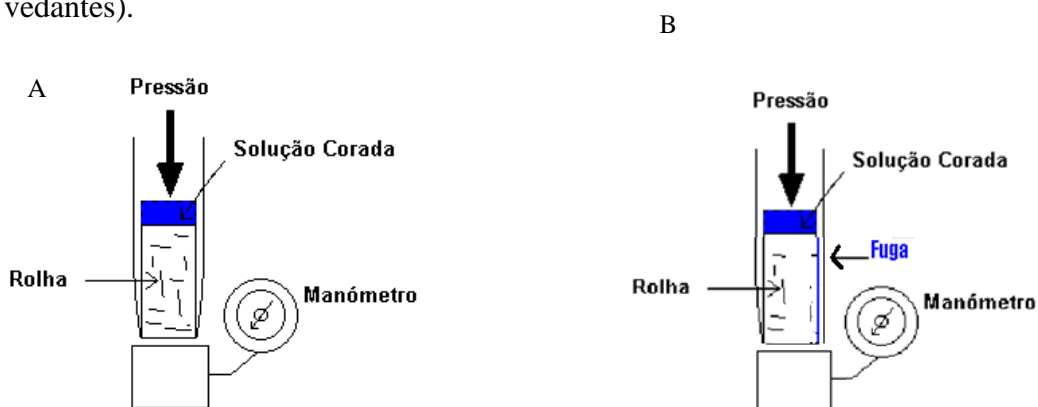
## 2.2 Parâmetros físico-químicos

As tabelas de amostragens encontram-se no anexo I.

A determinação da capilaridade tem como objetivo verificar a capacidade da rolha de cortiça em absorver à superfície a solução hidroalcoólica. Para esta realização experimental preparou-se de uma solução hidroalcoólica a 12% (v/v) corada com corante azul de metileno a partir de uma solução etanólica  $\geq 99,9$  % (v/v). Encheu-se uma caixa de Petri com a solução hidroalcoólica a 12% (v/v) corada até cerca de 5 mm de altura. Colocou-se os topos de 3 rolhas do lote a analisar por cada caixa de Petri e deixou-se repousar durante 24 horas. Após este período retirou-se as rolhas da solução e colocou-se sobre papel de filtro para reter os líquidos sobranes. Por análise visual verificou-se se houve progressão da solução hidroalcoólica corada á superfície da rolha. Caso houvesse progressão, esta era medida com uma régua com menor divisão da escala de 1 mm. Os resultados são expressos em milímetros (mm) e arredondados à unidade.

A determinação da estanquicidade/comportamento à vedação líquida tem como objetivo verificar se há progressão da solução hidroalcoólica na interface rolha-vidro quando a solução hidroalcoólica exerce na rolha determinadas pressões e baseia-se na Norma Portuguesa 2803-5:1996 – Rolhas de cortiça - Ensaio físicos - Parte 5:

comportamento à vedação. Para esta realização experimental preparou-se uma solução hidroalcoólica a 12% (v/v) corada com corante azul de metileno a partir de uma solução etanólica  $\geq 99,9$  % (v/v). As rolhas foram introduzidas em tubos de vidro (que simulam o gargalo da garrafa) através da engarrafadora automática: engarrafadora de modelo Epsilon R/S, da marca Bertolaso e deixou-se estabilizar no mínimo 1 hora. Após esse período, introduziu-se em cada tubo cerca de 2,5 ml da solução hidroalcoólica 12% (v/v) corada (figura 7- A). Fixou-se os tubos ao suporte da máquina de vedação/estanquicidade (árvore de vedação), da marca Egitron, e aguardou-se 10 min. De seguida, foi ligado o sistema de ar comprimido e aplicou-se pressão (figura 7- A). A pressão aplicada foi medida por um manómetro de 0,0 a 2,5 Kg/cm<sup>2</sup> com resolução de 0,1 Kg/cm<sup>2</sup> da marca Egitron. Inicialmente aplicou-se uma pressão de 0,5 bar durante 10 minutos e aumentou-se a pressão de 0,5 em 0,5 bar com intervalos de  $\pm 10$  minutos. Durante estes intervalos verificou-se se houve fuga total da solução hidroalcoólica corada entre a interface rolha-vidro (figura 7- B). Caso houvesse, registava-se a pressão a que ocorreu a fuga e o número de rolhas que suportaram essa pressão. Considerou-se o ensaio como terminado à pressão de 2 bar. Os resultados da determinação da estanquicidade são expressos em percentagem de rolhas que não apresentaram fugas à pressão indicada (em percentagem de rolhas vedantes).



**Figura 7:** A- Localização da solução corada e da aplicação de pressão no tubo de vidro com a rolha no ensaio de determinação da estanquicidade; B- Possível fuga que pode ocorrer na interface rolha-vidro quando é aplicada pressão na solução corada no ensaio de determinação da estanquicidade.

A determinação da força de extração tem como objetivo verificar a correta aplicação do tratamento de superfície face à extração da rolha e baseia-se na Norma Portuguesa 2803-4 :1996 – Rolhas Cilíndricas - Ensaio físicos – Determinação da força de extração. As rolhas foram introduzidas nos gargalos das garrafas (com diâmetro interno de acordo



com as especificações do cliente) através da engarrafadora automática: engarrafadora de modelo Epsilon R/S, da marca Bertolaso, e deixou-se estabilizar no mínimo 1 hora. Após esse período, aplicou-se o saca-rolhas na rolha introduzida na garrafa de modo a que a sua haste ficasse cerca de 3 mm fora da rolha. Para a medição da força de extração utilizou-se um sistema de medição de forças de extração: extraLab, modelo 01.00 da marca Egitron. Regulou-se a velocidade do extraLab para 30 cm/min, fixou-se o gargalo com o saca-rolhas na base móvel de suporte do extraLab, colocou-se a prensa em movimento e procedeu-se à extração da rolha. O valor da força de extração foi registado. O resultado final do ensaio corresponde à média dos resultados obtidos e é expresso em decaNewton, daN, arredondado à décima.

A determinação da resistência à água fervente tem como objetivo verificar a qualidade agregação do aglomerado (das rolhas aglomeradas/microaglomeradas e técnicas (1+1)) e da colagem dos discos com o corpo aglomerado (das rolhas técnicas (1+1)). Esta determinação baseia-se na Norma Portuguesa 2803:7 (2013) – Rolhas de cortiça - Ensaios físicos - Parte 7: Determinação da resistência à água fervente. Para esta realização experimental colocou-se cerca de 3 litros de água (da torneira) na panela, aqueceu-se numa placa de aquecimento circular da marca Normax até à ebulição. Após ter chegado ao ponto de ebulição adicionou-se as rolhas na panela e deixou-se a água em ebulição durante 1 hora. Após esse período retirou-se as rolhas, escoou-se e deixou-se secar à temperatura ambiente durante aproximadamente 15 minutos. Ao fim desse tempo, procedeu-se à análise visual das rolhas, verificando a ausência ou existência de desagregação do aglomerado e de abertura totais ou parciais no(s) plano(s) de colagem. O resultado da determinação da resistência à água fervente exprime-se pela percentagem de rolhas que apresentaram desagregações ou aberturas no plano de colagem.

A determinação do teor de humidade tem como objetivo a obtenção da percentagem de humidade presente no interior das rolhas de cortiça e baseia-se na Norma Portuguesa: NP ISO 9727-3:2011- Rolhas de cortiça cilíndricas, ensaios físicos, determinação de humidade. A determinação das dimensões, ovalização, massa e massa volúmica das rolhas tem como objetivo assegurar que as especificações do cliente são cumpridas e baseiam-se na Norma Portuguesa ISO 9727-1:2011 - Rolhas de cortiça cilíndricas - Ensaios físicos - Determinação das dimensões e na Norma Portuguesa ISO 9727-2:2011 – Rolhas de cortiça cilíndricas - Ensaios físicos - Determinação da massa e da massa volúmica aparente para

rolhas de cortiça aglomeradas. Ambas as realizações experimentais foram realizadas num equipamento de sistema automático de medição de rolhas: denominado MedCork da marca Egitron. O aparelho MedCork encontra-se ligado a um computador e todas as medições são transferidas para o relatório previamente aberto, integrado num software específico. As características do equipamento estão agrupadas na tabela 8.

**Tabela 8:** Características técnicas do MedCork

Equipamentos de medida	Resolução
Comparadores	0,01 mm
Balança	0,01 g
Higrómetro	0,1 % H.R
Diâmetro das rolhas	18 mm a 35 mm ( $\pm 1$ mm)
Comprimento das rolhas	25 mm a 60 mm ( $\pm 1$ mm)
Interface de comunicação	RS232 (USB c/ conversor)
Capacidade de Análise	(1 comprimento + 2 diâmetros + 1 massa + 1 humidade) 160 rolhas / hora

Para a determinação do teor de humidade foi utilizado um higrómetro de agulhas com dois eléctrodos incorporado no aparelho MedCork em que as agulhas do higrómetro são automaticamente introduzidas no corpo da rolha a analisar, a meio do seu comprimento até uma profundidade de cerca de metade do seu diâmetro. Os resultados são expressos em percentagem de humidade arredondados às décimas.

Para a determinação das dimensões, da ovalização e da massa volúmica foram utilizadas uma mesa comparadora automática e uma balança, incorporadas no aparelho MedCork. Para a determinação do comprimento das rolhas de cortiça colocou-se entre a haste vertical e a base da mesa comparadora os topos da rolha. Para a determinação do diâmetro centrou-se e ajustou-se o meio do comprimento da rolha entre as hastes horizontais. O valor indicado ( $D_1$ ) em mm é registado. Rodou-se a rolha 90° e registou-se o valor indicado ( $D_2$ ). O diâmetro de cada rolha, expresso em milímetros e arredondado à décima, foi dado por:

$$D = \frac{D_1 + D_2}{2}$$

Em que:

$D_1$  – Diâmetro da rolha colocada na primeira posição.

$D_2$  – Diâmetro da rolha colocada na segunda posição.

Para a determinação da ovalização foi necessário utilizar a fórmula seguinte:

$$\text{Ovalização} = |D_1 - D_2|$$

Em que:

$D_1$  – Diâmetro da rolha colocada na primeira posição.

$D_2$  – Diâmetro da rolha colocada na segunda posição.

Os resultados das dimensões e da ovalização são expressos em milímetros e arredondados às décimas.

Para a determinação da massa volúmica mediu-se a massa de cada rolha na balança. A massa volúmica de cada rolha ( $\rho$ ), expresso em  $\text{Kg/m}^3$  é dada por:

$$\rho = \frac{m \times 10^6}{\pi \times \left(\frac{d}{2}\right)^2 \times L}$$

Em que:

m - Massa da rolha.

d – Diâmetro da rolha.

L – Comprimento da rolha.

$\pi=3.14$

O resultado da massa volúmica é expresso em  $\text{Kg/m}^3$  e arredondado à décima.

A determinação do teor de peróxido de hidrogénio tem como objetivo a medição da sua concentração nas rolhas de cortiça e baseia-se na Norma Portuguesa 4502 :2011 – Rolhas de cortiça - Determinação de resíduos de peróxidos. Para esta realização experimental preparou-se uma solução de ácido acético a 0,2% (v/v) a partir de uma solução de ácido acético  $\geq 99,8\%$  (v/v). Retirou-se 100 mL de solução de ácido acético a 0,2% (v/v) para o balão de Erlenmeyer onde foram colocadas 3 rolhas da amostra a analisar e tapou-se com parafilm. Colocou-se o balão no agitador de modelo Unimax 2010, marca Heidolph, durante 1 hora à velocidade de 120 rpm. Após esse período, retirou-se o parafilm e introduziu-se a palheta do Kit Quantofix Peroxide 25, da marca Sigma-Aldrich, na solução de ácido acético durante  $\pm 2$  segundos. Retirou-se a palheta, sacudiu-se para eliminar o líquido sobranter e esperou-se 15 segundos. O valor da concentração de peróxido de hidrogénio é obtido por comparação da tonalidade de cor obtida na palheta com a indicada na embalagem da mesma. O teor de peróxido de hidrogénio (mg/rolha) é calculado através da seguinte fórmula, arredondada às décimas:

$$\text{Teor de H}_2\text{O}_2 \text{ (mg/rolha)} = \frac{\text{concentração obtida na embalagem (mg/L)} \times 0,1 \text{ (L)}}{3 \text{ rolhas}}$$

A determinação do teor de resíduos sólidos (quantificação de pó) tem como objetivo quantificar o pó libertado das rolhas de cortiça após o tratamento da superfície e baseia-se na Norma Portuguesa ISO 9727-7 :2010: Rolhas de Cortiça Cilíndricas, Ensaio físicos, Parte 7 – Determinação de resíduos sólidos. Para esta realização experimental foi preparada uma solução hidroalcoólica a 12% (v/v) a partir de uma solução etanólica  $\geq 99,9\%$  (v/v). Inicialmente colocou-se o conjunto membrana (de porosidade  $1,2 \mu\text{m}$ ) e vidro de relógio na estufa a  $(30 \pm 2) ^\circ\text{C}$  durante 2 horas. Após esse período pesou-se o conjunto numa balança analítica de modelo Delta Range AE 260-S, marca Mettler AE 260 e registou-se a massa inicial ( $m_1$ ) em mg. De seguida foram colocadas 4 rolhas por cada balão de Erlenmeyer e adicionou-se 250 ml de solução hidroalcoólica a 12% (v/v). Colocou-se o balão de Erlenmeyer no agitador de modelo Unimax 2010, marca Heidolph, durante 20 min a uma velocidade entre 140 rpm e 160 rpm. Filtrou-se a solução hidroalcoólica através da membrana anteriormente pesada com o vidro de relógio, a pressão reduzida com o auxílio de uma bomba de vácuo modelo NO2AT-18 de marca KNF. Cortou-se o vácuo, retirou-se a membrana, colocou-se no respetivo vidro do relógio e deixou-se secar na estufa regulada para a temperatura de  $(30 \pm 2) ^\circ\text{C}$  por um período de 24 horas. Após esse período deixou-se arrefecer no exsiccador e procedeu-se à pesagem do conjunto membrana e vidro do relógio ( $m_2$ ) e registou-se a massa em mg. O teor de resíduos sólidos por rolha é expresso em miligrama por rolha (mg/rolha), arredondado à décima e utilizando a seguinte fórmula:

$$Teor_{Resíduos} = \left( \frac{m_2 - m_1}{n} \right)$$

Em que:

$m_1$  – Massa do conjunto membrana + vidro do relógio.

$m_2$  – Massa, após filtração, do conjunto membrana + vidro do relógio.

$n$  – Número de rolhas no balão de Erlenmeyer ( $n=4$ ).

A quantificação de haloanisóis tem como objetivo quantificá-los no macerado das rolhas de cortiça e baseia-se na ISO 20 752 Bouchons de liège – Dosage du 2,4,6 triclороанisol (TCA) relégable. Para a preparação do macerado colocou-se 20 rolhas do lote num frasco de vidro de 1 litro. Encheu-se o frasco com vinho branco com teor alcoólico de 12% (v/v) de modo a que todas as rolhas ficassem imersas e deixou-se

repousar durante 24 horas. Após esse período transferiu-se parte do macerado para um frasco de vidro de 100 ml e este foi enviado para um laboratório externo.

O laboratório externo utiliza como referência, para a quantificação de haloanisóis, os métodos: Norma ISO 20752: Bouchons en liège- Dosage du 2,4,6-thrighloroanisol (TCA) relargable e a Norma UNE 56930 – Determinación del 2,4,6-thrighloroanisol (TCA) transferible, sendo ambos ajustados pelo próprio laboratório, por isso o número de réplicas realizadas é desconhecido. Os resultados dos ensaios efetuados referem-se à quantificação de 2,4,6-tricloroanisol, 2,3,4,6-tetracloroanisol, 2,4,6-tribromoanisol e pentacloroanisol em ng/L. O limite de quantificação (LQ) é 0,5 ng/L e o limite de detecção (LD) é 0,3 ng/L.

## 2.2 Parâmetros sensoriais

A análise sensorial tem como objetivo garantir a qualidade das rolhas de cortiça e estudar as características sensoriais das rolhas a fim de avaliar a aceitabilidade das rolhas compradas pela PrecisionElite. Esta análise baseia-se na ISO 22308:2005 – Bouchons en Liège – Analyse sensorielle e é utilizado o ensaio descritivo: perfil de escolha livre. Foram analisadas, no mínimo, 10 rolhas por cada 10000.

O painel de provadores é constituído pela engenheira química da empresa, considerada uma provadora treinada e por uma estudante de bioquímica que recebeu o treino sensorial no laboratório da empresa PrecisionElite sob a orientação da engenheira. Nas sessões de treino, que duraram 3 semanas, entre setembro e outubro de 2016, foram realizadas análises sensoriais às rolhas de cortiça. Foi solicitado que a estudante identificasse e descrevesse os aromas que surgissem, com base na roda dos aromas da cortiça e em soluções padrão preparadas em água provenientes do CEVAQOE - Laboratório, Investigação e desenvolvimento, LDA- Les goûts moisi-terreux dans les vins, descritos na tabela 9.

**Tabela 9:** Compostos, descritores de aromas e concentração dos padrões utilizados na análise sensorial.

Composto	Descritor de aroma	Concentração
TCA	Bolor da cortiça	0,3 ng/L
1-octeno-3-ol	Cogumelo	2 µg/L
Geosmina	Bolor-terra, beterraba	1 ng/L
3-isopropil-2-metoxipirazina	Terra, espargos, nabos	2 ng/L
2-metilisoborneol	Cânfora, bolor, maçã	0,6 ng/L

Foi também solicitado que atribuisse uma escala de intensidade entre 1 a 5, sendo que 1-muito ligeiro, 2-ligeiro, 3-moderado, 4-intenso e 5-muito intenso do aroma sentido. Estas foram estabelecidas tendo em conta os critérios pessoais estabelecidos pela engenheira.

A duração das sessões de análise sensorial, para cada amostra de lote, foi entre 15-30 minutos, o local de realização das sessões foi no laboratório da PrecisionElite e a frequência da realização de análises sensoriais foi cerca de 7 sessões por semana. Para a realização da análise sensorial foram colocadas 5 rolhas da amostra a analisar em frascos de vidro de 250 ml com tampa de rosca e adicionou-se água destilada até que as rolhas ficassem totalmente imersas. Os frascos foram fechados e foram deixados a repousar durante 24 horas. Após este período, o macerado de cada um dos frascos foi transferido para um copo de vidro que cumpre os requisitos da ISO 3591 e deixado a repousar durante 5 minutos para posteriormente ser cheirado. Caso o macerado apresentasse um aroma indesejado, cheirava-se cada uma das rolhas no frasco e comparava-se o aroma detetado com os aromas representados na roda dos aromas da cortiça e/ou com os padrões (figura 6 e tabela 9) e atribuía-se uma intensidade, tendo em conta os critérios do treino recebido inicialmente.

Nos registos dos resultados contaram o número dos frascos em que o aroma foi detetado, o número de rolhas que apresentaram esse aroma para obtenção da percentagem de rolhas contaminadas por lote, o descritor do aroma detetado e a sua intensidade (muito ligeiro, ligeiro, moderado, intenso, muito intenso). (a ficha de prova da análise sensorial encontra-se no anexo II). Os resultados das duas provadoras foram comparados e caso houvesse discrepância de resultados as rolhas eram novamente cheiradas até se chegar a um consenso.

## **2.3 Tratamento de dados**

### **2.3.1 Parâmetros físico-químicos**

Para os parâmetros: força de extração, humidade e dimensões, ovalização e massa volúmica foram determinadas as médias dos valores obtidos de cada lote para cada tipo de rolha: rolha natural sem revestimento, rolha natural com revestimento, rolha natural colmatada e rolha aglomerada/microaglomerada, e de seguida determinou-se a média, a gama e o desvio padrão da média dos valores anteriormente obtidos, através do programa

Excel for Windows da Microsoft, versão 2016. Para verificar se existia influência entre os parâmetros: capacidade de vedação (estanquicidade/comportamento à vedação líquida) e força de extração, teor de resíduos sólidos e força de extração, capacidade de vedação (estanquicidade/comportamento à vedação líquida) e teor de humidade, força de extração e teor humidade e dimensões e teor de humidade foram realizados gráficos de três variáveis através do programa Excel for Windows da Microsoft, versão 2016.

### **2.3.2 Parâmetros sensoriais**

A percentagem de lotes de rolhas naturais e naturais colmatadas contaminados e os respetivos descritores de aromas e intensidades de aroma mais elevados detetados foram analisados através de gráficos obtidos a partir do programa Excel for Windows da Microsoft, versão 2016.

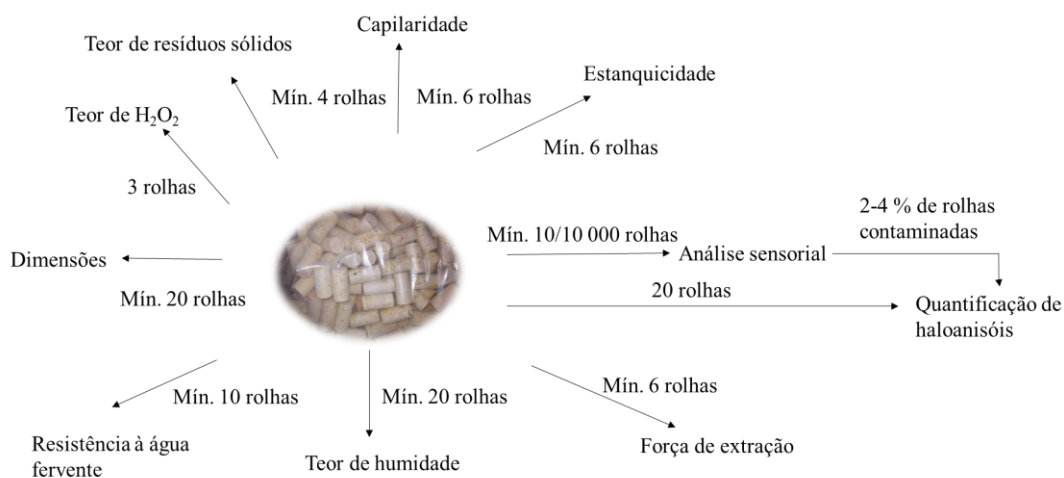
Para verificar se existia correlação entre a intensidade de aroma detetado mais elevado e a percentagem de rolhas contaminadas por lote, obtidos através da análise sensorial das rolhas naturais, foi realizado um gráfico com duas variáveis e foi calculado o coeficiente de Pearson através do programa Excel for Windows da Microsoft, versão 2016.

Para a verificação variação dos resultados da análise sensorial das diferentes classes provenientes da mesma recolha de cortiça, foi utilizado o teste estatístico de igualdade de variâncias (teste de Levene) no programa SPSS da IBM, com nível de significância de 0,05.

### 3. Resultados e discussão

Na primeira fase foi realizada uma formação inicial que passou por conhecer as diferentes áreas da empresa (anexo III). Na área da gestão da empresa foi possível conhecer a história da empresa, ter uma visão geral dos produtos e serviços (acabamento das rolhas de cortiça permitindo ao cliente a escolha do tipo, classe, calibre e marcação das rolhas), qual a sua missão e visão (contribuir para a valorização da rolha de cortiça enquanto vedante natural das garrafas de vinho e ser reconhecida como uma empresa de referência a nível internacional) e conhecer a sua política de gestão. Na área de recursos humanos foi apresentado o posto de trabalho, os horários e datas de funcionamento da empresa. Na área de produção foi possível visitar as instalações e ter uma visão real e pormenorizada do processo produtivo. Por fim, na área de qualidade, segurança e ambiente foi apresentado o manual de sistema de gestão integrado e foram dadas informações acerca do plano de HACCP implementado pela empresa. Nesta fase foi possível acompanhar auditorias de qualidade e resoluções de não conformidades.

Na segunda fase foi realizada uma análise detalhada do plano de inspeção e ensaios realizados no laboratório da PrecisionElite que permitiu verificar em que atividade do fluxo do processo se analisavam os parâmetros físico-químicos e sensoriais assim como o número de rolhas analisadas por lote, a frequência da medição, os equipamentos e métodos utilizados e por fim algumas observações relacionadas com as medições. Na figura 8 estão esquematizados os parâmetros analisados no laboratório da PrecisionElite assim como número mínimo de rolhas analisadas por lote.



**Figura 8:** Diagrama do trabalho realizado na empresa PrecisionElite: parâmetros analisados no laboratório da empresa e o número mínimo de rolhas analisadas por lote.



### 3.1 Parâmetros físico-químicos

O resultado obtido na determinação da capilaridade foi de 0 mm para todos os tipos de rolhas analisadas, indicando que as rolhas não absorveram solução sob efeito de capilaridade. O resultado está de acordo com o esperado uma vez que cerca de 40% da constituição da parede celular é composta por suberina que é a maior responsável pela baixa permeabilidade da parede celular [2, 8]. Apesar de, após o tratamento da superfície da rolha de cortiça a impermeabilidade da rolha ser reforçada, pode ocorrer eventualmente alguma absorção de líquido, o que não se verificou. Embora os resultados obtidos não diferem entre os diferentes tipos de rolhas, González-Adrados *et al.* concluíram que o comportamento de absorção difere significativamente entre rolhas naturais e rolhas aglomeradas/ microaglomeradas [28]. As rolhas aglomeradas/ microaglomeradas são constituídas por colas que fixam os seus grânulos formando uma barreira para a progressão do líquido, tendo como consequência uma menor absorção de líquido que as rolhas naturais.

Os resultados obtidos na determinação da capacidade de vedação das rolhas de cortiça demonstraram que 100% dos lotes de rolhas naturais sem revestimento analisadas foram estanques até 1,5 bar. No entanto 57% e 43% dos lotes de rolhas naturais com revestimento e de rolhas naturais colmatadas analisadas apresentaram estanquicidade até esta pressão, respetivamente. Recordando que o resultado permitido estabelecido pela PrecisionElite é a presença de 100% de rolhas vedantes até 1,5 bar (por lote), 100% dos lotes de rolhas naturais sem revestimento analisados apresentaram este resultado. Por sua vez, apenas 57% dos lotes de rolhas naturais com revestimento e 43% dos lotes de rolhas naturais colmatadas analisados apresentaram este resultado. Apesar dos lotes pertencentes a rolhas naturais com revestimento e a rolhas naturais colmatadas apresentarem resultados não expectáveis de acordo com o critério definido pela PrecisionElite, foram aceites devido à especificidade definida pela cliente: 100% de rolhas vedantes até 0,9 bar. A especificidade de percentagem de rolhas vedantes até uma determinada pressão pode ser definida pelo cliente pois esta depende das condições que o vinho e a garrafa vão estar sujeitos. Durante o armazenamento e/ou transporte, o vinho engarrafado não está imune às variações da temperatura ambiente. Estas variações são responsáveis pela variação da pressão interna do vinho tendo como consequência a alteração da pressão a que as rolhas ficam sujeitas. Segundo Boulton, o efeito do aumento da temperatura no vinho vai ter

como consequência um aumento da pressão no headspace da garrafa pois a temperatura aumenta a pressão dos gases não condensáveis, aumentando as pressões de vapor da água e do etanol e alterando a solubilidade do dióxido de carbono causando uma pressão adicional [74]. O mesmo autor indica que a expansão térmica do vinho entre 20 e 40°C é aproximadamente 0,8% do seu volume, logo para uma garrafa de vinho de 750 ml (volume mais comum) vai haver uma alteração de 0,3 ml por cada grau centígrado. Por isso é necessário que as rolhas suportem uma pressão superior à pressão do próprio vinho assim como suportem variações de pressão que podem ocorrer durante o transporte e armazenamento [5]. É expectável que haja diferenças na capacidade de vedação de rolhas entre lotes do mesmo tipo de rolha uma vez que, para que haja vedação é necessário que haja um contacto suficiente entre as células da parede celular da cortiça e o gargalo da garrafa de vidro para evitar a passagem direta do líquido do interior da garrafa para o seu exterior através da interface rolha-vidro. Usando a teoria da percolação e o modelo estrutural da cortiça, o modelo em favo de mel, estimou-se que a fração da superfície de interface que tem que ter contato para evitar vazamentos do vinho deve ser de cerca de 65%. Por sua vez o contacto entre a interface rolha-vidro não pode ser completo uma vez que ambas as superfícies apresentam rugosidades a níveis macroscópicos e microscópicos. Para superar esta rugosidade superficial é necessária a escolha correta das dimensões da rolha. As rolhas sendo produtos naturais têm estruturas celulares ligeiramente diferentes entre si e a fração da superfície de interface não é a mesma para todas as rolhas tendo como consequência diferenças na capacidade de vedação e na força de extração.

O fenómeno do fluxo de líquido ocorre através de espaços intersticiais sob a influência de pressão ou por efeito de capilaridade [28, 25]. A cortiça é altamente resistente a este fenómeno de permeabilidade devido à sua composição química e estrutura celular, no entanto a presença de pequenos canais de comunicação intracelulares com menos de 1  $\mu\text{m}$  podem promovê-lo [5, 28]. Sendo a cortiça estruturalmente anisotrópica, a difusão e o fluxo do líquido não ocorre à mesma velocidade em todas as seções da cortiça. Há uma maior velocidade na direção radial que é perpendicular à direção de avanço do líquido devido ao arranjo estrutural da cortiça das rolhas naturais, apesar de tal não ter sido verificado em nenhuma das determinações [5, 25, 28]. Quando o arranjo estrutural é alterado por um defeito visual e existem canais de comunicação intracelulares com elevadas dimensões, o avanço de líquido dá-se de uma forma mais rápida, dando origem a

resultados não confiáveis. Logo, as rolhas com defeitos visuais alteram o desempenho final da rolha de cortiça enquanto vedante de vinhos.

Os resultados referentes à determinação da força de extração encontram-se na tabela 10.

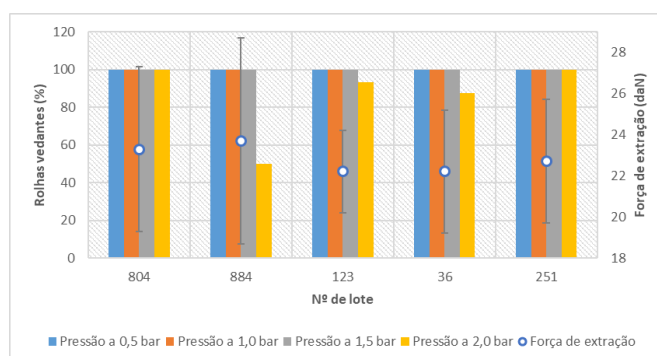
**Tabela 10:** Força de extração (em daN) dos diferentes tipos de rolhas.

<b>Tipos de rolhas</b>	<b>Média</b>	<b>Gama</b>	<b>Desvio padrão</b>
Rolhas naturais sem revestimento	23,7	21,2-26,8	1,65
Rolhas naturais com revestimento	21,4	17,3-25,8	2,27
Rolhas naturais colmatadas	22,4	19,8-24,1	1,21
Rolhas aglomeradas/ microaglomeradas	19,6	16,6-19,5	1,80

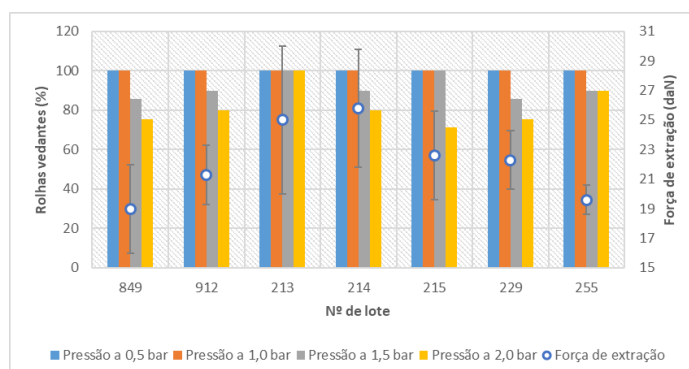
Recordando que os valores permitidos para a força de extração para as rolhas analisadas têm de se encontrar entre 15 – 45 daN após, no mínimo 1 hora após o engarrafamento, pela tabela 10 verifica-se que todos os valores se encontram dentro deste intervalo, sendo o resultado expectável. A variação dos valores das forças de extração provém da heterogeneidade do tratamento de superfície uma vez que este é feito a um conjunto de rolhas e não na base de rolha a rolha [5, 21]. Quando a média dos valores de força de extração das rolhas naturais sem revestimento (23,7 daN) é comparada às médias dos valores de força de extração das rolhas analisadas que receberam revestimento (rolhas naturais com revestimento: 21,4 daN e rolhas naturais colmatadas: 22,4 daN) verifica-se que a média da força de extração das rolhas naturais sem revestimento é a mais elevada. Estes resultados estão de acordo com o esperado, uma vez que o revestimento das rolhas naturais e o produto de colmatagem são feitos à base de resina e as resinas promovem a impermeabilização, resistência ao desgaste e aos ataques químicos/microbiológicos e uma certa lubrificação [75]. Assim, as rolhas que recebem este revestimento, seguido do tratamento de superfície apresentam um reforço da lubrificação e por isso exibem valores de força de extração mais baixo.

O tratamento de superfície pode influenciar a capacidade de vedação da rolha uma vez que, a rolha ao apresentar uma grande capacidade de lubrificação (baixos valores de força de extração), ao aplicar pressão no líquido inserido no gargalo e consequentemente na rolha, a fim de esta sair do gargalo, vai haver uma alteração na estabilidade no contacto entre a superfície da rolha e a do gargalo da garrafa levando a uma má vedação. No entanto, apesar de se verificarem diferenças na média dos valores de força de extração entre os lotes de rolhas naturais sem revestimento e de rolhas naturais com revestimento

(médias de 23,7 e 21,4 daN, respetivamente) assim como na capacidade de vedação (100% de rolhas vedantes até 1,5 bar em 100% dos lotes de rolhas naturais com revestimento analisados e 100% de rolhas vedantes até 1,5 bar em 28,6% dos lotes de rolhas naturais sem revestimento analisados), não se verifica influência entre estes dois parâmetros. Ao analisar os resultados da figura 9, verifica-se que o lote nº 804 apresenta uma média de força de extração de 23,3 daN e o lote nº 884 uma média de 23,7 daN. No entanto, apesar de apresentarem médias de forças de extração idênticas verifica-se que o lote nº 804 apresenta uma capacidade de vedação de 100% de rolhas vedantes a 2,0 bar e o lote nº 884 uma capacidade de vedação de 50% de rolhas vedantes à mesma pressão. Ao analisar a figura 10, verifica-se que os lotes nºs 912 e 214 apresentam a mesma capacidade de vedação: 90 % de rolhas vedantes a 1,5 bar e 80% de rolhas vedantes a 2,0 bar, contudo, ambas apresentam forças de extração diferentes: o lote nº 912 apresenta uma média de 21,3 daN e o lote nº 214 apresenta uma média de 25,8 daN. Concluiu-se no primeiro caso que lotes com forças de extração idênticas podem não corresponder à mesma capacidade de vedação e no segundo caso que, lotes com diferentes valores de força de extração podem apresentar a mesma capacidade de vedação.



**Figura 9:** Capacidade de vedação (em % de rolhas vedantes) e força de extração (em daN) de lotes de rolhas naturais sem revestimento.



**Figura 10:** Capacidade de vedação (em % de rolhas vedantes) e força de extração (em daN) de lotes de rolhas naturais com revestimento.

Dentro de cada lote e entre lotes, os valores de forças de extração variam uma vez que: dependem do efeito de compressão da rolha contra a superfície de vidro que advém da composição química e estrutura celular da própria rolha, do atrito de deslizamento e da presença de rugosidades entre a interface rolha-vidro [5]. A força de atrito é influenciada pela quantidade de resíduos sólidos que estão presentes nas rolhas e por isso é importante analisar este parâmetro.

Os resultados referentes à determinação de resíduos sólidos encontram-se na tabela 11.

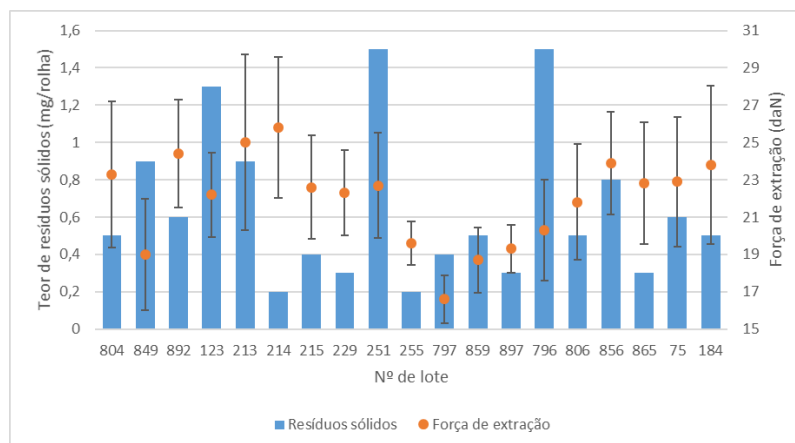
**Tabela 11:** Teor de resíduos sólidos (mg/rolha) dos diferentes tipos de rolhas.

<b>Tipos de rolhas</b>	<b>Média</b>	<b>Gama</b>	<b>Desvio padrão</b>
Rolhas naturais sem revestimento	1,1	0,5-1,5	0,4
Rolhas naturais com revestimento	0,5	0,2-0,9	0,3
Rolhas naturais colmatadas	0,7	0,3-1,5	0,4
Rolhas aglomeradas/ microaglomeradas	0,4	0,3-0,5	0,1

Pela tabela 11 verifica-se que os resultados estão de acordo com o esperado pois todas as rolhas analisadas apresentam um teor de resíduos sólidos abaixo do limite de aceitação: 2 mg/rolha. Segundo Reynolds, as lenticelas presentes nas rolhas de cortiça são a maior fonte de pó, seria por isso de esperar que as rolhas de classes de má qualidade apresentassem uma maior quantidade de pó libertada, mesmo após o tratamento de superfície [35]. Tal verifica-se nas rolhas naturais em que o lote que apresenta maior quantidade de pó libertada é o nº 251 (figura 11) que corresponde à classe 3ª, enquanto que os outros lotes apresentam uma quantidade de pó libertada menor e correspondem à classe 1ª e 2ª. Em relação às rolhas naturais colmatadas, as lenticelas já estão tapadas com o revestimento de colmatagem e com o revestimento à base de resina, no entanto se os revestimentos não forem corretamente colocados pode haver uma libertação de pó excessiva.

Os resultados da influência da quantidade de resíduos sólidos presentes nas rolhas de cortiça na força de extração estão presentes na figura 11. Pela sua análise verifica-se que a quantidade de resíduos sólidos presentes nas rolhas não influenciou a força de extração. No caso das rolhas naturais, verifica-se que o lote nº 123 apresenta a maior quantidade de pó libertado (1,3 mg/rolha) e o lote nº 214 a menor quantidade (0,2 mg/rolha), no entanto apresentam uma média de força de extração de 22,2 e 25,8 daN respetivamente, indicando que uma maior quantidade de resíduos sólidos libertados não corresponde a um maior

valor de força de extração. O mesmo acontece quando se analisa os restantes lotes dos tipos de rolhas: aglomeradas/microaglomeradas e naturais colmatadas. Assim, os resíduos sólidos presentes nas rolhas de cortiça apenas afetarão a força de atrito e consequentemente a força de extração quando se encontrarem acima de determinado limite: 2 mg/rolha. O facto de haver uma quantidade de resíduos sólidos libertados abaixo do limite de aceitação permite comprovar os valores expectáveis da força de extração, indicando que os resíduos sólidos não influenciaram a força de atrito aquando a extração das rolhas das garrafas.



**Figura 11:** Teor de resíduos sólidos libertados (em mg/rolha) e força de extração (em daN) de lotes de rolhas naturais (lotes nºs 804, 849, 892, 123, 213, 214, 215, 229, 251 e 255) aglomeradas/microaglomeradas (lotes nºs: 797, 859 e 897) e naturais colmatadas (lotes nºs 796, 806, 856, 865, 75 e 184).

Os resultados obtidos referentes à determinação da humidade encontram-se na tabela 12.

**Tabela 12:** Teor de humidade (em %) dos diferentes tipos de rolhas.

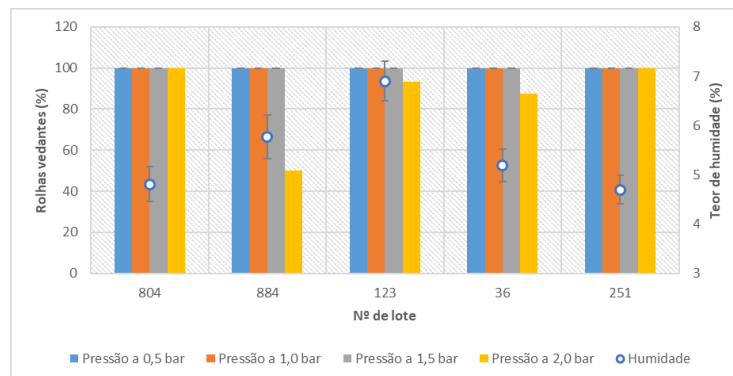
Tipos de rolhas	Média	Gama	Desvio padrão
Rolhas naturais sem revestimento	5,4	4,4-7,0	0,75
Rolhas naturais com revestimento	5,3	4,4-6,3	0,51
Rolhas naturais colmatadas	5,2	4,4-6,4	0,55
Rolhas aglomeradas/ microaglomeradas	4,4	4,1-5,1	0,23

Recordando que os valores permitidos para o teor de humidade é 4-8%, verifica-se pela tabela 12 que todos os valores estão dentro do expectável. A humidade é um parâmetro facilmente controlado pois, quando as rolhas apresentam uma humidade inferior a 4% sofrem um processo de hidratação e quando apresentam uma humidade superior a 8% sofrem um processo de secagem [2]. A diferença do teor de humidade dentro do mesmo lote e entre lotes deve-se ao facto de, embora a cortiça apresente baixa permeabilidade

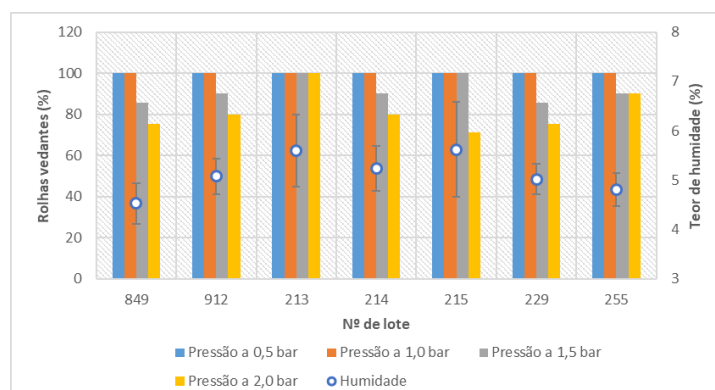
devido á sua composição química, a parede celular da cortiça tem a capacidade de absorver água. A absorção ocorre por difusão, apesar de ser um processo lento e por penetração nas células fechadas contribuindo para um aumento da massa, do volume e por sua vez, da dimensão da rolha, sendo que o gás contido dentro das células não parece obstruir a penetração da água [20, 25, 28]. A difusão é a consequência do gradiente de concentração entre as duas extremidades da rolha e a penetração de água líquida nas células ocorre por um mecanismo de evaporação-condensação. A condensação reduz a pressão de vapor de água nas células, o que induz uma maior evaporação das paredes celulares nas células. A taxa de absorção vai depender da estrutura e composição celular da própria rolha [25, 28]. Dependendo das condições de transporte e armazenamento as rolhas podem absorver água. A água está presente na cortiça sob duas formas: pode estar ligada à parede celular por forças intermoleculares, por pontes de hidrogénio ou pode estar contida nos espaços estruturais vazios [5]. A hidrosopia dos diferentes componentes da parede celular tem em conta as diferenças das suas estruturas moleculares, sendo que, cortiças que apresentem uma maior constituição de hemiceluloses e celulosas vão apresentar uma maior capacidade de absorção de água. A presença de canais lenticulares influencia o teor de humidade nas rolhas de cortiça uma vez que aumenta a área de contacto para a adsorção de água e a sua composição química potencia a absorção da mesma. Assim, embora as rolhas sofram o mesmo processo de secagem ou hidratação, a heterogeneidade química e física da amostra leva à existência de diferenças no teor de humidade.

A humidade afeta as propriedades elásticas das rolhas de cortiça, tendo como consequência alterações nas propriedades de compressão e inserção. A baixos teores de humidade as rolhas de cortiça ficam suscetíveis à rutura e ao aparecimento de vinco aquando do engarrafamento assim como não se adaptam ao gargalo tão facilmente. Estes factos podem causar uma deficiência na capacidade de vedação, que poderia justificar a diferença na capacidade de vedação entre os lotes de rolhas naturais com e sem revestimento [21]. Pela figura 12 verifica-se que os lotes nºs 804 e 251 são os únicos lotes que apresentam 100% de rolhas vedantes a todas as pressões e são os que apresentam os teores de humidade mais baixos (4,8 e 4,7% respetivamente). Pela figura 13 verifica-se que os lotes nºs 213 e 215 apresentam capacidade de vedação diferentes, 100 % de rolhas vedantes a 2,0 bar e 70% de rolhas vedantes a 2,0 bar respetivamente, no entanto apresentam o mesmo teor de humidade: 5,6%. Estes exemplos permitem concluir que,

quando os teores de humidade estão dentro dos valores de aceitação, podem não afetar as propriedades elásticas da rolha e consequentemente a capacidade de vedação pois só afetariam caso o teor de humidade fosse inferior a 4% [5].



**Figura 12:** Capacidade de vedação (em % de rolhas vedantes) e o teor de humidade (em %) de lotes de rolhas naturais sem revestimento.

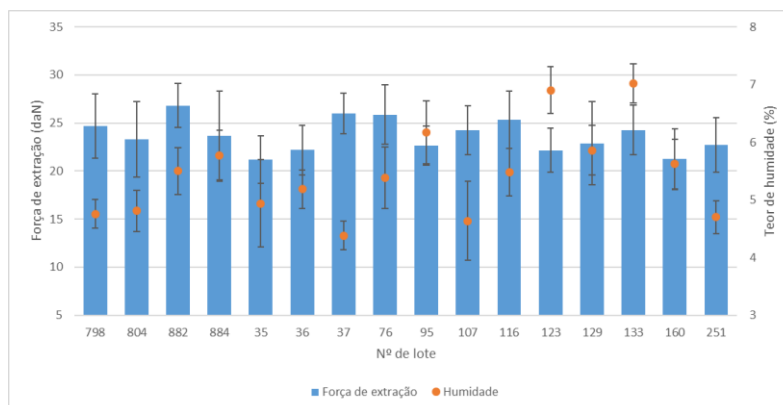


**Figura 13:** Capacidade de vedação (em % de rolhas vedantes) e teor de humidade (%) de lotes de rolhas naturais com revestimento.

Se as propriedades elásticas da rolha forem comprometidas, isto é, quando o teor de humidade for muito baixo, a rolha não conseguirá fazer uma pressão uniforme ao longo do gargalo da garrafa ao fim de 1 hora e por isso a força de extração será maior, ao fim do mesmo período de tempo. Pela figura 14 verifica-se que, o lote nº 35 apresenta uma média de força de extração de 21,2 daN e um teor de humidade de 4,9% e o lote nº 133 apresenta uma média de força de extração de 24,3 daN e um teor de humidade de 7,0%, indicando que um baixo teor de humidade não corresponde a um maior valor de força de extração. Estes exemplos permitem concluir que, tal como ocorre na capacidade de vedação, os teores de humidade só poderão afetar as propriedades elásticas das rolhas de cortiça e consequentemente a força de extração se teor de humidade for inferior a 4% [5]. O mesmo



se verifica quando se analisa a força de extração e o teor de humidade nos lotes de outros diferentes tipos de rolhas (Anexo IV).



**Figura 14:** Força de extração (em daN) e teor de humidade (em %) em lotes de rolhas naturais sem revestimento.

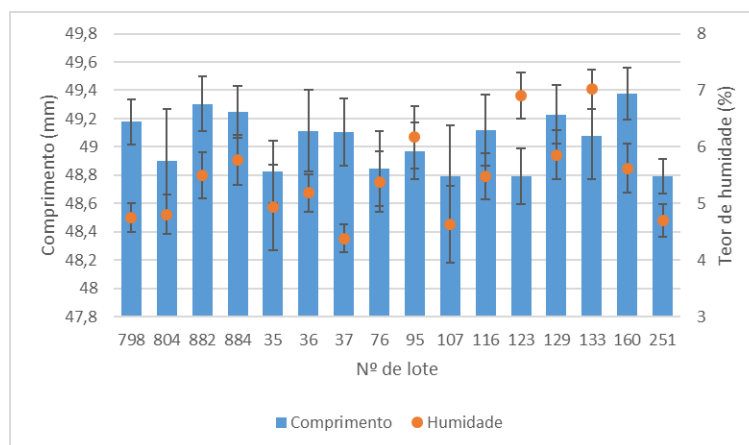
Na determinação da resistência à água fervente, é aplicado às rolhas de cortiça técnicas (1+1) um aumento da humidade e da temperatura que permite verificar a qualidade dos planos de colagem e da agregação do aglomerado. Os resultados referentes à determinação da resistência à água fervente encontram-se na tabela 13, sendo que, nenhuma das rolhas analisadas apresentou desagregação do aglomerado.

**Tabela 13:** Percentagem de rolhas técnicas (1+1) que apresentaram descolagens (parciais e totais), resultantes da determinação da resistência à água fervente.

Nº de lote	Descolagens parciais	Descolagens totais
787	5	0
788	0	0
18	0	0
143	0	0
240	20	0

Pela tabela 13 verifica-se que o lote nº 787 apresentou 5% de descolagens e lote nº 240 apresentou 20% de descolagens, sendo ambas descolagens parciais. Uma vez que o critério de aceitação correspondente a 2% de descolagens parciais, totais e desagregação do plano, os lotes nºs 788 e 240 foram recusados. Os resultados destes lotes não estão de acordo com o expectável e estas descolagens podem dever-se à não uniformidade da distribuição da cola na área de colagem ou à qualidade e composição da cola que não permitiu uma colagem total.

Como já foi referido, as dimensões das rolhas são influenciadas pelos teores de humidade presentes nestas. Quando se relaciona a média dos valores do comprimento das rolhas com as médias dos valores da humidade nas rolhas naturais sem revestimento, presente na figura 15, verifica-se que a humidade não influencia o comprimento. Tal pode ser comprovado pela análise do lote nº 123 que apresenta uma média de comprimento de 48,8 mm e de humidade de 6,9 % quando comparado aos valores do lote nº 129 que apresenta uma média de comprimento de 49,2 mm e de humidade 5,9%. O mesmo ocorre quando se analisa os restantes tipos de rolhas e dimensões (Anexo V) permitindo concluir que, se o teor de humidade estiver dentro dos parâmetros de aceitação: 4-8% não vai afetar os valores das dimensões.



**Figura 15:** Comprimento (em mm) e teor de humidade (em %) das rolhas naturais sem revestimento.

Os resultados referentes à determinação do comprimento encontram-se na tabela 14.

**Tabela 14:** Comprimento (em mm) dos diferentes tipos de rolhas.

Tipos de rolhas	Média	Gama	Desvio padrão
Rolhas naturais sem revestimento	49,0	48,8-49,4	0,19
Rolhas naturais com revestimento	49,0	48,6-49,5	0,25
Rolhas naturais colmatadas	49,0	48,6-49,4	0,23
Rolhas aglomeradas/ microaglomeradas	44,1	44,0-44,3	0,10

Recordando que os valores permitidos para o comprimento das rolhas naturais é  $49,0 \pm 0,7$  mm e das rolhas aglomeradas/ microaglomeradas é  $44,0 \pm 0,5$  mm, verifica-se pela tabela 14 que todos os valores se encontram dentro deste intervalo. Os resultados são os expectáveis. As dimensões das rolhas de cortiça são definidas pelos clientes e o comprimento das rolhas escolhidas tem de garantir headspaces com volume adequado, na garrafa, para permitir compensações de pressões internas geradas por efeito de eventuais

alterações térmicas durante o armazenamento e transporte (que podem ser muito significativas) [2, 74]. A gama de volume recomendada entre a rolha de cortiça e o vinho é entre 6-9 mL, uma vez que um volume muito grande pode contribuir para características sensoriais desfavoráveis e um volume muito pequeno pode levar à não estabilização da rolha no gargalo assim como à penetração do vinho pela rolha devido à pressão exercida [21, 76, 77].

Os resultados referentes à determinação do diâmetro encontram-se na tabela 15.

**Tabela 15:** Diâmetro (em mm) dos diferentes tipos de rolhas.

<b>Tipo de rolhas</b>	<b>Média</b>	<b>Gama</b>	<b>Desvio padrão</b>
Rolhas naturais sem revestimento	24,1	23,8-24,3	0,11
Rolhas naturais com revestimento	24,0	23,8-24,2	0,12
Rolhas naturais colmatadas	24,1	23,9-24,2	0,092
Rolhas aglomeradas/ microaglomeradas	24,4	24,3-24,6	0,098

Recordando que os valores permitidos para o diâmetro para as rolhas naturais é  $24,0 \pm 0,5$  mm e para as rolhas aglomeradas/microaglomeradas é  $24,4 \pm 0,3$  mm, pela tabela 15 verifica-se que todos os valores se encontram dentro deste intervalo. Os resultados são os expectáveis. O diâmetro das rolhas escolhidas deve ajustar-se eficazmente ao diâmetro do gargalo da garrafa à qual se vai aplicar a rolha. Por isso, se a escolha do diâmetro não for a correta pode levar a problemas de vedação [2]. Segundo Rosa *et al.* quando aplicada uma força de compressão até 30% do diâmetro nas rolhas de cortiça, estas recuperam quase totalmente as suas dimensões [78]. Após a compressão as camadas da parede celular da cortiça realinham-se explicando o retorno elástico e ajustando-se ao gargalo da garrafa [21]. Assim, para inserir a rolha no gargalo, não se deve comprimir a rolha mais que 30% do seu diâmetro, uma vez que uma compressão superior pode danificar a estrutura celular da cortiça tendo como consequência a alteração das características que tornam a rolha um bom vedante. Por outro lado as dimensões das rolhas também se relacionam com o tempo de estágio e do tipo de bebidas para as quais são destinadas [2]. Vinhos associados a um estágio em garrafa prolongado necessitam de rolhas com comprimento e diâmetro maiores a fim de prevenir a fuga do vinho para fora da garrafa. Para bebidas que apresentem um headspace com elevada pressão são necessárias rolhas com dimensões maiores, principalmente diâmetro, a fim de suportar as elevadas pressões existentes nas garrafas.

Os resultados referentes à determinação da massa volúmica encontram-se na tabela 16.

**Tabela 16:** Massa volúmica (Kg/m<sup>3</sup>) dos diferentes tipos de rolhas.

Tipo de rolhas	Média	Gama	Desvio padrão
Rolhas naturais sem revestimento	176,1	161,8-187,5	8,59
Rolhas naturais com revestimento	180,4	156,2-208,6	11,3
Rolhas naturais colmatadas	199,0	187,5-223,8	8,33
Rolhas aglomeradas/ microaglomeradas	261,4	243,5-276,2	11,7

Recordando que os valores permitidos para a massa volúmica para as rolhas naturais revestidas e naturais colmatadas são 120-270 Kg/m<sup>3</sup>, para as rolhas naturais sem revestimento são 120-220 Kg/m<sup>3</sup> e para as rolhas aglomeradas/ microaglomeradas são 200-280 Kg/m<sup>3</sup>, pela análise da tabela 16, todos os valores se encontram dentro deste intervalo, obtendo-se resultados expectáveis. As massas volúmicas variam de rolha para rolha do mesmo tipo devido: 1) às características estruturais como o tamanho das células, a espessura e ondulação da parede celular provocadas pelas tensões compressivas de crescimento da cortiça e a extensão da porosidade derivada dos canais lenticulares; 2) às composições químicas como a presença de inclusões e descontinuidades da lenhina [5,6]. Devido a estas variâncias é necessário um intervalo de critério de aceitação relativamente elevado, na escala das 60-100 unidades. Entre os diferentes tipos de rolhas os critérios de aceitação variam pois estes dependem do processo de produção da em rolha de cortiça, sendo o intervalo de aceitação mais baixo para as rolhas naturais e de seguida para as rolhas naturais revestidas e colmatadas, uma vez que apresentam um revestimento. As rolhas aglomeradas/microaglomeradas apresentam um intervalo de aceitação com valores mais elevados pois são constituídas por cola e por um conjunto de grânulos que por si só já aumentam a densidade uma vez que apresentam menos espaços vazios. De salientar que a massa volúmica afeta as propriedades de compressão, uma vez que uma alta densidade está associada a uma maior resistência à compressão nas três direções da rolha de cortiça. [29, 79]. Este facto vai ter impacto na escolha do diâmetro da rolha para a garrafa respetiva.

Os resultados referentes à determinação da ovalização encontram-se na tabela 17.

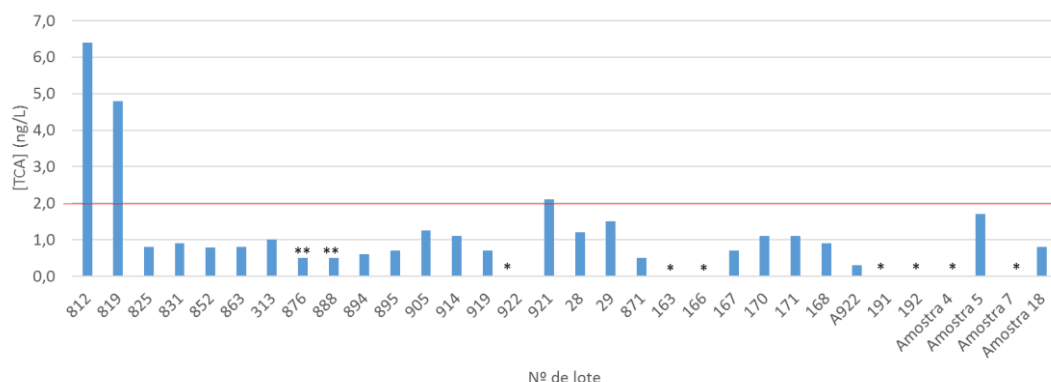
**Tabela 17:** Ovalização (em mm) dos diferentes tipos de rolhas.

Tipo de rolhas	Média	Gama	Desvio padrão
Rolhas naturais sem revestimento	0,15	0,089-0,20	0,032
Rolhas naturais com revestimento	0,13	0,080-0,20	0,037
Rolhas naturais colmatadas	0,19	0,059-0,35	0,068
Rolhas aglomeradas/ microaglomeradas	0,034	0,010-0,054	0,013

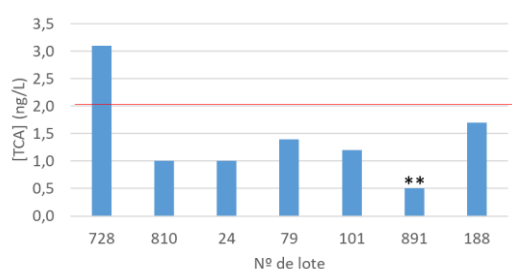
Recordando que os valores de aceitação da ovalização para as rolhas naturais são inferiores a 0,7 mm para as rolhas aglomeradas/ microaglomeradas são inferiores a 0,5 mm, pela análise da tabela 17, todos os valores estão dentro do intervalo de aceitação. Ambos os resultados estão de acordo com o expectável pois asseguram a forma dimensional da rolha de cortiça.

O teor de peróxido de hidrogénio nas rolhas de cortiça é medido antes da medição do teor de humidade pois este pode influencia-la [80]. Para as rolhas naturais sem revestimento verifica-se que 100% dos lotes apresentaram uma concentração inferior ao limite de aceitação (0,2 mg/rolha), 8,7% dos lotes de rolhas naturais com revestimento, 5% dos lotes as rolhas naturais colmatadas e 15% dos lotes de rolhas aglomeradas/microaglomeradas apresentavam uma concentração superior ao limite de aceitação (0,2 mg/rolha). Os lotes que apresentavam concentração superior ao valor de aceitação foram colocados a arejar num local com ventilação a fim de ocorrer a decomposição de peróxido de hidrogénio em oxigénio e água e posteriormente foi realizada uma segunda medição da concentração de peróxido de hidrogénio, tendo-se obtido um valor inferior 0,2 mg/rolha [80].

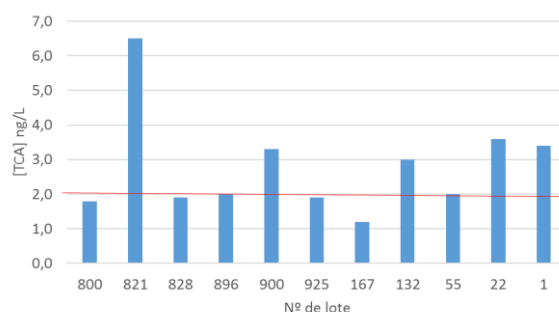
Os dados obtidos referentes à quantificação de haloanisóis nas rolhas de cortiça naturais encontram-se no anexo VI e apenas são apresentadas as concentrações de TCA, uma vez que as concentrações dos outros haloanisóis quantificados: 2,3,4,6-tetracloroanisol, 2,4,6-tribromoanisol e pentacloroanisol apresentaram valores abaixo de 0,5 ng/L em todas as amostras analisadas. Pela figura 16, 17 e 18 verifica-se que 10% dos lotes de rolhas naturais analisados, 14% dos lotes de rolhas naturais colmatadas analisados e 45% dos lotes de rolhas aglomeradas/microaglomeradas analisados apresentaram uma concentração de TCA superior ao limite de aceitação (2 ng/L), tendo sido automaticamente rejeitados pela empresa PrecisionElite. Os lotes de rolhas aglomeradas/microaglomeradas apresentam uma maior percentagem de lotes com concentração de TCA superior a 2 ng/L, pois, apesar deste tipo de rolhas serem produzidas a partir de subprodutos provenientes da produção de rolhas naturais, estes podem ter origens em aparas de diferentes cortiças e de rolhas de má qualidade visual. No processo de produção de rolhas de cortiça aglomeradas/microaglomeradas seria importante a aplicação de um método de redução de haloanisóis através da desinfeção dos grânulos de cortiça que constituem este tipo de rolhas.



**Figura 16:** Concentração de TCA (ng/L) de lotes de rolhas naturais. \*\* <Limite de quantificação (0,5ng/L) e \* - <Limite de deteção (0,3ng/L). A linha vermelha indica a concentração máxima de TCA admitida pela PrecisionElite.



**Figura 17:** Concentração de TCA (ng/L) de lotes de rolhas naturais colmatadas. \*\* <Limite de quantificação (0,5ng/L). A linha vermelha indica a concentração máxima de TCA admitida pela PrecisionElite.



**Figura 18:** Concentração de TCA (ng/L) de lotes de rolhas aglomeradas/ microaglomeradas. A linha vermelha indica a concentração máxima de TCA admitida pela PrecisionElite.

Para que o TCA migre da rolha de cortiça para o vinho na garrafa é necessário que as secções contaminadas da rolha estejam em contacto directo com o vinho ou com o headspace entre a rolha e o vinho [16]. Esta migração é influenciada pela temperatura, tempo e área de contacto e pela estrutura física da rolha de cortiça [16, 95]. Para promover a migração do TCA da rolha de cortiça para a água destilada e para o vinho por aumento da área de contacto, a maceração para a análise sensorial e para a quantificação de haloanisóis é realizada com as rolhas totalmente imersas nas soluções. No entanto, a concentração de

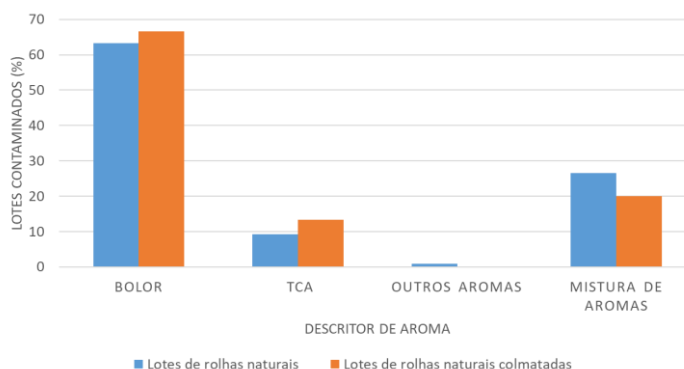
haloanisóis quantificada no macerado não corresponde à concentração total de haloanisóis presente na rolha [45]. Embora o macerado seja realizado em solução hidroalcoólica que permite uma melhor extração de haloanisóis, Hervé *et al.* demonstraram que, após 24 horas de imersão da rolha natural numa solução hidroalcoólica 10 % (v/v), apenas 0,05-2,0% do total de TCA na rolha foi transferido para o macerado. Apesar de ser uma percentagem de TCA libertável baixa, não se deve prolongar o tempo de imersão uma vez que a concentração de haloanisóis na solução tende a alterar-se devido à readsorção e ao desenvolvimento microbiano [45, 72].

### **3.2 Parâmetros sensoriais**

Os dados obtidos referentes à análise sensorial das rolhas de cortiça naturais e naturais colmatadas encontram-se no anexo VI. Com esses dados foi possível obter os seguintes resultados: nas rolhas naturais, 86,5% dos lotes analisados estavam contaminados com compostos voláteis capazes de provocar defeitos de aroma no vinho, sendo que 29,4% dos lotes apresentavam  $\leq 2\%$  de rolhas contaminadas, 35,8 % dos lotes apresentavam entre 2-4% de rolhas contaminadas e 34,9% dos lotes apresentavam  $\geq 4\%$  de rolhas contaminadas (tendo sido rejeitados pela PrecisionElite) e nas rolhas colmatadas, 83,3% dos lotes analisados estavam contaminados com compostos voláteis capazes de provocar defeitos de aroma no vinho, sendo que 26,7% dos lotes apresentavam  $\leq 2\%$  de rolhas contaminadas, 66,7% dos lotes apresentavam, entre 2-4% de rolhas contaminadas e 6,7% dos lotes apresentavam  $\geq 4\%$  de rolhas contaminadas (tendo sido rejeitados pela PrecisionElite). Pela percentagem de rolhas contaminadas por lote, verifica-se que os lotes de rolhas naturais apresentam uma maior percentagem de rolhas contaminadas que os lotes de rolhas naturais colmatadas (35% e 7% dos lotes de rolha naturais e naturais colmatadas, respetivamente, apresentaram  $\geq 4\%$  de rolhas contaminadas). Por sua vez, os lotes de rolhas naturais colmatadas apresentam uma maior percentagem de 2-4% de rolhas contaminadas, quando comparados aos lotes de rolhas naturais, colocando em dúvida a qualidade de maior quantidade de lotes. A presença, nas rolhas de cortiça, de compostos voláteis capazes de provocar defeitos de aroma nos vinhos não é favorável, mas é expectável uma vez que se estima que, num lote, ainda surjam 6% de rolhas contaminadas com estes compostos [86]. Ao comparar os resultados obtidos com a estimativa, verifica-se que na PrecisionElite a percentagem de rolhas contaminadas por lote para ambos os tipos

de rolhas está bastante abaixo do esperado, indicando que o controlo deste tipo de compostos está a ser bem realizado.

Pela figura 19, verifica-se que, em 63% dos lotes de rolhas naturais e em 67% dos lotes de rolhas naturais colmatados contaminados apenas estão presentes compostos voláteis com descritores de aroma pertencentes ao grupo bolor, em 27% dos lotes de rolhas naturais e em 20% dos lotes de rolhas naturais colmatados contaminados estão presentes compostos voláteis com descritores de aroma pertencentes a diferentes grupos da roda de aromas da cortiça (definido por “mistura de aroma”), em 9,3% dos lotes de rolhas naturais e em 13% dos lotes de rolhas naturais colmatados contaminados apenas está presente o composto volátil com descritor de aroma a TCA e em 0,91% dos lotes de rolhas naturais contaminados apenas estão presentes compostos voláteis com descritores de aroma que não pertencem ao grupo bolor da roda de aromas da cortiça e TCA (definido por “outros aromas”). O facto de haver maior percentagem de lotes de rolhas naturais colmatadas contaminados com aromas pertencentes ao grupo bolor e a TCA pode dever-se ao processo de transformação das rolhas colmatadas. Como foi referido o processo de colmatagem utiliza o pó resultante do processo de retificação de todas as rolhas, sem que haja controlo de contaminantes sensoriais. Este pó, ao estar contaminado, vai contaminar as rolhas naturais colmatadas.



**Figura 19:** Percentagem de lotes contaminados e descritores de aromas obtidos na análise sensorial dos lotes de rolhas naturais e naturais colmatadas. Os descritores: “outros aromas” indica que, no lote contaminado, estão presentes compostos voláteis com descritores de aroma que não pertencem ao grupo bolor da roda de aromas da cortiça e TCA e a “mistura de aromas” indica que, no lote contaminado, estão presentes compostos voláteis com descritores de aroma pertencentes a diferentes grupos da roda de aromas da cortiça.

Os compostos voláteis mais comuns apresentam descritores de aroma pertencentes ao grupo bolor e o TCA. O TCA por ser um composto volátil com baixo limite de percepção sensorial e de fácil síntese é descrito como o maior responsável pelos off-flavours no vinho



provocados pela cortiça, no entanto, os seus precursores também são compostos voláteis que apresentam como descritor de aroma mofo, tornando por isso o aroma a TCA e os aromas pertencentes ao grupo bolor da roda de aromas os mais comuns [36, 81 - 84].

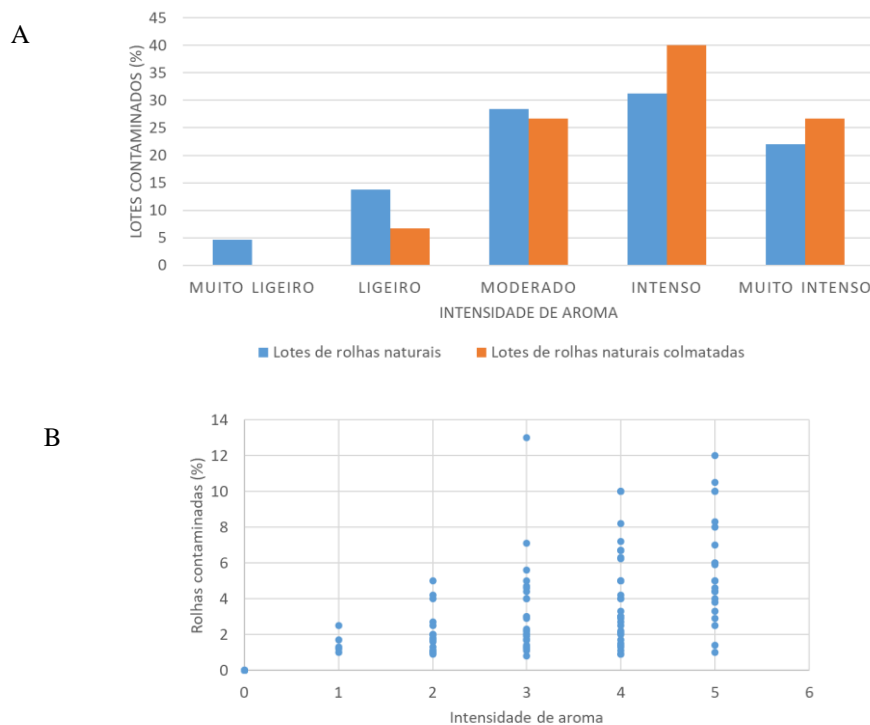
Embora o TCA tenha um aroma característico, geralmente é atribuído um descritor de aroma pertencente ao grupo bolor da roda de aromas, uma vez que é difícil a distinção entre os aromas. Soleas *et al.* promoveram a análise sensorial de 2400 vinhos comerciais por um painel de provadores treinados em que foram detetados 145 vinhos (6%) com aromas fúngicos [86]. Após a análise por GC-MS verificou-se que 71 dos vinhos (49%) apresentavam níveis de TCA superiores a 2 ng/L (limite de detecção sensorial definido pelo estudo). Este resultado indica que a contaminação de 74 vinhos (51%) provém de outros compostos para além do TCA, mas que foram descritos com o mesmo aroma. A principal conclusão deste estudo é que 51% dos aromas fúngicos detetados no vinho não são produzidos pelo TCA, podendo ser produzidos pelo seu precursor, derivados ou compostos que apresentem descritores de aroma idênticos. Por sua vez outros estudos indicam que quando são detetados aromas pertencentes ao grupo bolor da roda de aromas da cortiça, estes se devem principalmente à presença do TCA como relata um estudo europeu da QUERCUS que, quando detetados sensorialmente compostos voláteis com descritores de aroma a mofo/bolor no vinho engarrafado, em 80% dos casos o composto responsável pelo aroma foi o TCA e Hervé *et al.* que indicam que quando são detetados sensorialmente compostos voláteis com descritores de aroma a mofo nas rolhas de cortiça, o composto responsável é o TCA em 70-80% dos casos [45, 85].

Durante o estágio foi possível verificar a complexidade da atribuição dos descritores de aroma pois, aquando a abertura do frasco do macerado para a quantificação de haloanisóis do lote nº 921 (anexo VI), foi possível sentir o cheiro a mofo, e não a TCA, sendo a concentração de TCA posteriormente obtida de 50 ng/L.

Verifica-se pela figura 20:A que 31% e 40% dos lotes de rolhas naturais e rolhas naturais colmatadas contaminados, respetivamente, apresentaram o nível intensidade de aromas intenso como o mais elevado, 28% e 27 % dos lotes de rolhas naturais e rolhas naturais colmatadas contaminados, respetivamente, apresentaram o nível intensidade de aromas moderado como o mais elevado e 22% e 27 % dos lotes de rolhas naturais e rolhas naturais colmatadas contaminados, respetivamente, apresentaram o nível intensidade de aromas muito intenso como o mais elevado. Estes resultados permitem concluir que as

intensidades dos aromas dos compostos voláteis capazes de provocar defeitos de aromas nos vinhos presentes na cortiça resultam das suas elevadas concentrações ou das suas ações sinérgicas.

Pela figura 20:B, verifica-se pelo coeficiente de Pearson de 0,61 que há uma correlação moderada positiva entre a percentagem de rolhas naturais contaminadas por lote e a intensidade de aroma mais elevada detetada na análise sensorial [89]. Este resultado está de acordo com o expetável uma vez que, cada macerado é realizado com 5 rolhas e quando são detetados aromas com intensidade elevada, significa que no macerado está presente uma grande concentração desse composto que dá origem ao aroma, contaminando as rolhas que lhe estão próximas [3]. Por sua vez, dentro do lote os compostos voláteis são facilmente transmitidos pelo ar e absorvidos pelas rolhas. A análise sensorial através da maceração de 5 rolhas leva a um enviesamento do resultado final, uma vez que este resulta da cinética de dessorção-absorção de todas as rolhas numa mesma maceração. O ideal seria realizar a análise sensorial na base rolha-a-rolha, mas é uma técnica bastante demorada e por isso não é vantajosa para a indústria.



**Figura 20:** **A-** Percentagem de lotes contaminados e intensidade de aroma mais elevada detetada na análise sensorial dos lotes de rolhas naturais e rolhas naturais colmatadas. **B-** Percentagem de rolhas naturais contaminadas por lote e intensidade de aroma mais elevada detetada na análise sensorial (0- sem aroma, 1- Muito ligeiro, 2- Ligeiro, 3- Moderado, 4-Intenso e 5- Muito intenso) (Coeficiente de Pearson: 0,61).

Pode ser extremamente difícil distinguir com precisão entre intensidades de aroma ao nível de limite de detecção e em matrizes em que haja uma grande variedade de aromas. Para minimizar a obtenção de dados menos corretos é essencial: utilizar provadores treinados (no mínimo 3); uma matriz simples como água destilada; o maior número possível de padrões de aroma; e no mínimo três padrões de níveis de intensidade [87,88]. Peña-Neira *et al.* demonstraram que embora, em cerca de 80% dos casos o TCA presente tivesse uma concentração média mais elevada que o seu limite de percepção (4 ng/L), nem sempre houve uma relação direta entre a concentração de TCA e a sua intensidade de aroma, particularmente a baixas concentrações, verificando-se que outros compostos clorados eram os responsáveis pela atribuição da intensidade de aromas [47].

Ao analisar os resultados da análise sensorial entre os lotes dos dois tipos de rolhas: naturais e naturais colmatadas, verifica-se que, em ambos os descritores de aroma mais frequentes são os pertencentes ao grupo bolor, sendo que este descritor está presente em mais lotes contaminados de rolhas naturais colmatadas. De seguida, em ambos os lotes, os descritores de aroma que surgem mais frequentemente é a “mistura de aromas”, sendo que, a percentagem de lotes contaminados com “mistura de aromas” é maior para os lotes de rolhas naturais. Isto indica que há maior variedade de aromas nos lotes de rolhas naturais do que nos lotes de rolhas naturais colmatadas. Em relação à intensidade de aromas detetados, verifica-se que para ambos os lotes dos dois tipos de rolhas contaminados, o nível de intensidade detetado mais elevado foi o intenso, sendo que este nível surgiu como o mais elevado em maior percentagem de lotes de rolhas naturais colmatadas. De seguida, em ambos os lotes, o nível de intensidade detetado mais elevado foi o muito intenso e uma vez mais, este nível surgiu como o mais elevado em maior percentagem de lotes de rolhas naturais colmatadas. Estas diferenças de resultados de análise sensorial podem dever-se à diferença do número de lotes analisados, pois foram analisados 126 lotes de rolhas naturais e 18 lotes de rolhas naturais colmatadas.

Analisou-se as características sensoriais de diferentes classes de rolhas provenientes de cada recolha de cortiça com o objetivo de verificar qual a variância de descritores de aroma, intensidades de aromas e as percentagens de rolhas contaminadas. Os resultados referentes à análise sensorial das diferentes classes de cada recolha encontram-se no anexo VII.

**Tabela 18:** Teste de igualdade de variâncias (Teste de Levene) para os descritores de aromas, intensidades de aromas e percentagens de rolhas contaminadas, obtidos através da análise sensorial, das diferentes classes de rolhas provenientes de cada recolha de cortiça (nível de significância=0,05).

Resultados da análise sensorial analisados	p-value
Descritores de aromas	0,00
Intensidades de aromas	0,13
Percentagens de rolhas contaminadas	0,02

Verifica-se, pela tabela 18, que as variâncias dos descritores de aroma e as percentagens de rolhas contaminadas não são homogêneas ao longo das diferentes classes de rolhas de cada recolha de cortiça, uma vez que o p-value < nível de significância (0,00 e 0,02 < 0,05). As intensidades de aromas não apresentam diferenças significativas ao longo das diferentes classes de cada recolha, uma vez que o p-value > nível de significância (0,13>0,05) [94].

Apesar da implementação e do cumprimento das boas práticas de fabricação de rolhas de cortiça definidas pelo CIPR assim como o desenvolvimento de processos físico-químicos e biológicos que se focam na eliminação de microrganismos que estão na origem da formação de haloanisóis ou atuam diretamente sobre os níveis de TCA presentes na cortiça, os haloanisóis continuam presentes na cortiça, como se verifica pelos resultados da análise sensorial e quantificação de haloanisóis [2, 83]. Os clorofenóis que estão na origem da formação dos haloanisóis, têm sido amplamente utilizados durante décadas, uma vez que a sua síntese é fácil, são baratos e são utilizados como pesticidas uma vez que o facto de serem lipossolúveis possibilita a sua passagem entre as membranas biológicas permitindo eliminar certos microrganismos [3]. Apesar do seu uso ser atualmente proibido na Europa devido às suspeitas de efeitos carcinogénicos, estes continuam a ser usados noutros continentes levando a que estes compostos, sendo voláteis e estando presentes em sistemas aquáticos, se possam dispersar por todo o mundo [42].

Pode afirmar-se que há uma analogia nos métodos utilizados na análise sensorial e na quantificação de haloanisóis uma vez que ambos os métodos utilizam o mesmo princípio químico de transferência de compostos voláteis para o macerado e a extração dos compostos voláteis e depois a sua posterior absorção pela fibra por SPME na quantificação de haloanisóis, pode ser comparada à absorção por inspiração dos compostos voláteis pelo nariz na análise sensorial. Apesar de ambos os métodos terem o mesmo princípio químico

de transferência de compostos voláteis para o macerado, utilizam diferentes matrizes e diferentes rolhas, o que limita a obtenção de uma correlação entre a concentração de haloanisóis no macerado e os resultados da análise sensorial. Para a quantificação de haloanisóis utilizou-se como matriz do macerado vinho branco com teor alcoólico de 12% (v/v) e para a análise sensorial utilizou-se como matriz água destilada. As diferentes matrizes têm diferentes efeitos na solubilidade e volatilidade dos compostos voláteis presentes nas rolhas de cortiça. A presença de etanol no vinho branco apesar de favorecer a solubilidade dos compostos voláteis, não favorece a sua volatilização, diminuindo a concentração de compostos voláteis no headspace, não possibilitando a realização da análise sensorial de forma tão eficiente [91, 92]. No entanto, se a fase de absorção da técnica SPME que utiliza uma fibra de polidimetilsiloxano segundo a ISO 20752 utilizada pelo laboratório externo, for realizada a uma temperatura na ordem dos 30°C, vai influenciar significativamente a passagem de compostos voláteis da fase líquida para a fase gasosa, permitindo uma eficiente extração e consequentemente quantificação de haloanisóis [56, 93]. Por sua vez é importante referir que as propriedades físico-químicas dos compostos voláteis são influenciadas pelos compostos constituintes do vinho como polissacarídeos, proteínas e polifenóis que vão ter como consequência a eficiência da extração dos haloanisóis [93]. Por esse motivo utiliza-se vinho branco para a quantificação de haloanisóis, uma vez que se supõe que esta matriz tem uma menor interação com o TCA do que o vinho tinto devido ao seu conteúdo de polifenóis. Na análise sensorial, utiliza-se água destilada devido: aos baixos limites de percepção sensorial dos compostos voláteis nesta matriz; à simplicidade dos compostos presentes na matriz que permite uma fácil identificação dos aromas e atribuição das respetivas intensidades; e, apesar desta matriz não favorecer a solubilidade dos compostos, favorece a sua volatilização.

A amostragem para a quantificação de haloanisóis e para a análise sensorial é diferente. Enquanto que para a análise sensorial a amostragem varia consoante o tamanho do lote, para a quantificação de haloanisóis o mesmo não ocorre, analisando-se sempre 20 rolhas independentemente do tamanho do lote. Assim, a análise sensorial reflete de uma forma mais próxima da real a presença de haloanisóis nos lotes de rolhas de cortiça.

## 4. Conclusões

Numa primeira fase foi possível conhecer a empresa PrecisionElite, acompanhar auditorias de qualidade e resoluções de não conformidades que permitiu um grande enriquecimento profissional e pessoal.

Numa segunda fase foram avaliados os parâmetros físico-químicos e sensoriais de rolhas de cortiça naturais (com e sem revestimento), naturais colmatadas, aglomeradas/microaglomeradas e técnicas (1+1). Os parâmetros físico-químicos avaliados foram: a capilaridade, a estanquicidade/comportamento à vedação líquida, a força de extração, a humidade, a resistência à água fervente, as dimensões (comprimento e diâmetro), ovalização, massa volúmica, o teor de peróxido de hidrogénio, o teor de resíduos sólidos e a quantificação de haloanisóis. Ao longo desta avaliação verificou-se que todos os parâmetros físico-químicos, dos lotes aceites pela empresa PrecisionElite, se encontravam dentro dos limites de aceitação. Em relação à avaliação do parâmetro sensorial, verificou-se que os compostos voláteis com descritores de aroma pertencentes ao grupo bolor e TCA nas rolhas de cortiça ainda são um problema para a indústria corticeira e vinícola. Apesar da percentagem de rolhas contaminadas por lote não ser muito elevada (nos lotes que a empresa aprovou), apenas 13,5% e 16,7% dos lotes de rolhas naturais e naturais colmatadas analisadas, respetivamente, não apresentaram qualquer tipo de contaminação sensorial. Em relação ao estudo das características sensoriais entre dois tipos de rolha: naturais e naturais colmatadas verificou-se que, no total, o número de lotes contaminados com compostos voláteis capazes de provocar defeitos de aroma no vinho é idêntico para os dois tipos de rolha: 86,5% e 83,3% respetivamente. No que se refere à percentagem de rolhas contaminadas por lote, os lotes de rolhas naturais apresentam uma maior percentagem do que os lotes de rolhas naturais colmatadas: 35% e 7% dos lotes de rolha naturais e naturais colmatadas, respetivamente, apresentam  $\geq 4\%$  de rolhas contaminadas. Em ambos os lotes dos tipos de rolha, os compostos voláteis com descritores de aroma pertencentes ao grupo bolor foram os mais frequentes. No entanto encontrou-se uma maior diversidade de aromas nos lotes de rolhas naturais. Em relação às intensidades dos aromas detetados nos lotes contaminados, verificou-se que os lotes de rolhas naturais colmatadas apresentam níveis de intensidade de aromas mais elevados que os lotes de rolhas naturais. Analisou-se a relação entre a intensidade dos aromas detetados e a percentagem de rolhas contaminadas por lote, obtidos na análise sensorial, e verificou-

se que há uma relação moderada positiva uma vez que os compostos responsáveis pela contaminação sensorial são facilmente transmitidos às rolhas que lhe estão próximas contaminando-as. Dentro de cada recolha de cortiça verifica-se, através da análise sensorial, que as variâncias dos descritores de aroma e das percentagens de rolhas contaminadas por classe não são homogêneas ao longo das diferentes classes de cada recolha mas as intensidades de aromas detetados não apresenta diferenças significativas ao longo das diferentes classes de cada recolha.

Com este trabalho verificou-se que os parâmetros físico-químicos ao se apresentarem dentro dos limites de aceitação vão ser influenciados positivamente entre eles. Nos parâmetros sensoriais, os compostos voláteis com descritores de aromas pertencentes ao grupo bolor e TCA ainda são um problema para a indústria vinícola.

## 5. Bibliografia

- [1] APCOR, “#Cork: Anuário de cortiça.” Folheto informativo, Apcor, Portugal, 2015.
- [2] APCOR, “Manual técnico das rolhas.” Folheto informativo, Apcor, Portugal, 2015.
- [3] J. J. R. Coque, E. R. Pérez, M. Goswami, R. F. Martínez, S. C. García, M. . L. Á. Rodríguez, and J. F. M. Martín, *Wine Contamination by Haloanisoles: Towards the development of biotechnological strategies to remove chloroanisoles from cork stoppers*. Léon: INBIOTEC, 2006.
- [4] M. A. Fortes, M. E. Rosa, and H. Pereira, *A cortiça*, IST. Lisboa: Instituto Superior Técnico Press, 2004.
- [5] H. Pereira, *Cork: Biology, Production and Uses*. UK: Elsevier Science, 2007.
- [6] S. P. Silva, M. a. Sabino, E. M. Fernandes, V. M. Correlo, L. F. Boesel, and R. L. Reis, “Cork: properties, capabilities and applications,” *Int. Mater. Rev.*, vol. 50, no. 4, pp. 256–256, 2005.
- [7] H. Pereira, “Variability of the chemical composition of cork,” *BioResources*, vol. 8, no. 2, pp. 2246–2256, 2013.
- [8] H. Pereira, “Chemical composition and variability of cork from *Quercus suber* L.,” *Wood Sci. Technol.*, vol. 22, no. 3, pp. 211–218, 1988.
- [9] J. Graça and H. Pereira, “Methanolysis of bark suberins: Analysis of glycerol and acid monomers,” *Phytochem. Anal.*, vol. 11, no. 1, pp. 45–51, 2000.
- [10] C. P. Neto, N. Cordeiro, A. Seca, F. Domingues, A. Gandini, and D. Robert, “Isolation and characterization of a guaiacyl lignin from saponified cork of *Quercus suber* L.,” *Holzforschung*, vol. 50, no. 5, pp. 393–400, 1996.
- [11] U. Agarwal and R. Atalla, “Using Raman spectroscopy to identify chromophores in lignin-lignocellulosics,” *ACS Symp. Ser.*, pp. 250–264, 2000.
- [12] S. Varea, M. C. García-Vallejo, E. Cadahía, and B. Fernández De Simón, “Polyphenols susceptible to migrate from cork stoppers to wine,” *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 213, no. 1, pp. 56–61, 2001.
- [13] E. Conde, E. Cadahía, M. C. García-Vallejo, B. F. de Simón, and J. R. G. Adrabos, “Low Molecular Weight Polyphenols in Cork of *Quercus suber*,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 45, no. 7, pp. 2695–2700, 1997.
- [14] Cork Information Bureau, “Rolhas de cortiça.” Folheto informativo, Apcor, Portugal, 2015.
- [15] V. Oliveira, S. Knapic, and H. Pereira, “Natural variability of surface porosity of wine cork stoppers of different commercial classes,” *J. Int. des Sci. la Vigne du Vin*, vol. 46, no. 4, pp. 331–340, 2012.
- [16] M. A. Sefton and R. F. Simpson, “Compounds causing cork taint and the factors affecting their transfer from natural cork closures to wine – a review,” *Aust. J. Grape Wine Res.*, vol. 11, no. 2, pp. 226–240, 2005.
- [17] M. V. Silva Pereira, C.; Danesh, P.; Marques, J.J.F.; San Romão, “O gosto a rolha em vinhos - Estado actual dos conhecimentos,” *Ciência Téc. Vitiv.*, vol. 14, no. 2, pp. 79–99, 1999.
- [18] MikroQuímica, *Ficha técnica do produto - Hydrotopcork Castanho 5590*. 2015, p. 5.
- [19] J. C. De Toledo, M. O. Batalha, and D. C. Amaral, “Qualidade na Indústria Agroalimentar: situação atual e perspectivas,” *Rev. Adm. Empres.*, vol. 40, no. abril/junho, pp. 90–101, 2000.
- [20] A. L. Fonseca, C. Brazinha, H. Pereira, J. G. Crespo, and O. M. N. D. Teodoro,



- “Permeability of cork for water and ethanol,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 61, no. 40, pp. 9672–9679, 2013.
- [21] R. S. Jackson, *Wine Science: Principles and applications*, Elsevier. USA: Academic Press, 2008.
- [22] F. S. Semaan, *Conductive composite as versatile substrates for modeling of interfaces and sensors*. New York: Nova Science Publishers, 2016.
- [23] W. Noll, *Chemistry and Technology of Silicones*. United Kingdom: Academic Press, 1968.
- [24] J.-M. Riboulet and C. Alegoet, *Practical aspects of wine corkage*. França: Bourgogne Publications s.a.r.l., 1994.
- [25] M. E. Rosa and M. A. Fortes, “Water Absorption by Cork,” *Wood fiber Sci.*, vol. 25, no. 4, pp. 339–348, 1993.
- [26] R. Leveau, A. Lefebvre, M. Serrano, and P. Ribéreau-Gayon, “Études du bouchage liège, I. Rôle des surpressions dans l’apparition des bouteilles couleuses, bouchage sous gas carbonique,” *Connaiss. Vigne Vin*, vol. 11, pp. 351–377, 1977.
- [27] A. C. Oliveira, C. M. Peres, J. M. Correia Pires, C. Silva Pereira, S. Vitorino, J. J. Figueiredo Marques, M. T. Barreto Crespo, and M. V San Romão, “Cork stoppers industry: defining appropriate mould colonization,” *Microbiol. Res.*, vol. 158, no. 2, pp. 117–24, 2003.
- [28] J. R. González-Adrados, F. González-Hernández, J. L. García De Ceca, M. J. Cáceres-Esteban, and M. C. García-Vallejo, “Wine absorption by cork stoppers,” *Spanish J. Agric. Res.*, vol. 6, no. 4, pp. 645–649, 2008.
- [29] O. Anjos, C. Rodrigues, J. Morais, and H. Pereira, “Effect of density on the compression behaviour of cork,” *Mater. Des.*, vol. 53, pp. 1089–1096, 2014.
- [30] European Cork Federation, “Código Internacional das Práticas Rolheiras – Versão 6.06.” Ed.Celiège, Paris, 2014.
- [31] C. L. Filho, H. U. Suess, and D. Ag, “Hydrogen peroxide in chemical pulp bleaching- An overview,” *Iberoam. Congr. Pulp Pap. Res.*, no. 3, pp. 1–27, 2002.
- [32] G. Gellerstedt and I. Pettersson, “Chemical Aspects of Hydrogen Peroxide Bleaching. Part II the Bleaching of Kraft Pulps,” *J. Wood Chem. Technol.*, vol. 2, no. 3, pp. 231–250, 1982.
- [33] P. Ribéreau-Gayon, Y. Glories, A. Maujean, and D. Dubourdieu, “Handbook of Enology - Volume 2 - The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments.” John Wiley & Sons, Ltd, p. 442, 2006.
- [34] G. Chemical, “EM Quant® Peroxide Test, Catalog No. 10011.” [Internet]. Disponível em: <http://store.galladechem.com/peroxide-test-strips-05-25-ppm-em-quant--1-pk-of-100-10011-1-emd-p13076.aspx>. Acedido em janeiro de 2017.
- [35] A. G. Reynolds, *Managing Wine Quality: Volume2: Oenology and Wine Quality*. UK: Woodhead Publishing, 2010.
- [36] R. Curtis, D. Land, M. Griffiths, M. Gee, D. Robinson, J. Peel, D. C., and G. JM., “2,3,4,6-tetrachloroanisol: association with musty taint in chickens and microbiological formation,” *Nature*, vol. 235, pp. 223–224, 1972.
- [37] Anónimo, “Quercus – Qualitative experiments to determine the components responsible and eliminate the causes of undesirable sensory characteristics in drink stoppered with cork,” *Ed. CELiège*. Sta. Maria de Lamas, 1996.
- [38] P. Chatonnet, *Informe técnico: anisoles y Brettanomyces. Causas, efectos y mecanismos de control*. Madrid: Fundación para la Cultura del Vino, 2004.
- [39] G. Saxby, MJ; Reid, WJ; and Wragg, *Index of chemical taints*. UK: Leatherhead

- Food, 1982.
- [40] A. Malleret, L.; Bruchet, "Application of large volume injection GC/MS to the picogram analysis of chlorinated and brominated anisoles in 'earthy-musty' off-favor water samples.," *Water Sci. Technol.*, vol. 1, pp. 1–8, 2001.
  - [41] P. Chatonnet, S. Bonnet, S. Boutou, and M.-D. Labadie, "Identification and responsibility of 2,4,6-tribromoanisole in musty, corked odors in wine.," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 52, no. 5, pp. 1255–1262, 2004.
  - [42] D. Rigaud, J., Issanchou, S., Sarris, J. and Langlois, "Incidence des composés volatils issus du liège sur le goût de bouchon des vins," *Sci. Aliments*, vol. 4, pp. 81–93, 1984.
  - [43] T. D. H. Bugg, M. Ahmad, E. M. Hardiman, and R. Rahmanpour, "Pathways for degradation of lignin in bacteria and fungi.," *Nat. Prod. Rep.*, vol. 28, no. 12, pp. 1883–96, 2011.
  - [44] O. Pfeifer, "Spurenanalyse halogener Phenylmethylether (Anisole) in der aquatischen Umwelt". Tese de doutoramento, Universität Ulm, Germany, 2002.
  - [45] E. Herve, S. Price, G. Burns, and P. Weber, "Chemical Analysis of TCA As a Quality Control Tool For Natural Corks," 2000. [Internet]. Disponível em: [http://www.corkqc.com/currentresearch/CorkTaint/ETS\\_CQC-SPME.pdf](http://www.corkqc.com/currentresearch/CorkTaint/ETS_CQC-SPME.pdf). Acedido a dezembro de 2016.
  - [46] D. A. Barker, D. L. Capone, A. P. Pollnitz, H. J. McLean, I. L. Francis, H. Oakey, and M. A. Sefton, "Absorption of 2,4,6-trichloroanisole by wine corks via the vapour phase in an enclosed environment," *Aust. J. Grape Wine Res.*, vol. 7, pp. 40–46, 2001.
  - [47] A. Peña-Neira, B. F. de Simón, M. C. García-Vallejo, E. C. T. Hernández, and J. A. Suarez, "Presence of cork-taint responsible compounds in wines and their cork stoppers," *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 211, no. 4, pp. 257–261, 2000.
  - [48] S. Rocha, I. Delgadillo, and A. J. Ferrer Correia, "GC–MS Study of Volatiles of Normal and Microbiologically Attacked Cork from *Quercus suber* L.," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 44, no. 3, pp. 865–871, 1996.
  - [49] O. Mazzoleni, V.; Caldentey, P.; Careri, M.; Mangia, A.; Colagrande, "Volatile Components of Cork Used for Production of Wine Stoppers," *Am. J. Enol. Vitic.*, vol. 45, no. 4, pp. 401–406, 1994.
  - [50] P. J. Holloway, "The composition of suberin from the corks of *Quercus suber* L. and *Betula pendula* roth," *Chem. Phys. Lipids*, vol. 9, no. 2, pp. 158–170, 1972.
  - [51] Ó. Ezquerro and M. T. Tena, "Determination of odour-causing volatile organic compounds in cork stoppers by multiple headspace solid-phase microextraction," *J. Chromatogr. A*, vol. 1068, no. 2, pp. 201–208, 2005.
  - [52] A. V. Marques and H. Pereira, "Lignin monomeric composition of corks from the barks of *Betula pendula*, *Quercus suber* and *Quercus cerris* determined by Py-GC-MS/FID," *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, vol. 100, pp. 88–94, 2013.
  - [53] R. C. Strauss, B. Wilson, and P. J. Williams, "Taints and off-flavours resulting from contamination of wines: review of some investigations," *Austral. Grapegrow Winemak.*, p. 256, 1985.
  - [54] S. M. Rocha, M. A. Coimbra, and I. Delgadillo, "Occurrence of furfuraldehydes during the processing of *Quercus suber* L. cork. Simultaneous determination of furfural, 5-hydroxymethylfurfural and 5-methylfurfural and their relation with cork polysaccharides," *Carbohydr. Polym.*, vol. 56, no. 3, pp. 287–293, 2004.
  - [55] I. Raphael, *The Maillard reaction - Consequences for the Chemical and Life*

- Sciences*, 1 st. Hebrew University of Jerusalem, Israel, 1996.
- [56] P. Neto, “Compostos voláteis associados a defeitos de cortiça de *Quercus suber* L.: Estudo dos efeitos de matriz por micro-extracção em fase sólida na região de espaço de cabeça,” Tese de mestrado, Universidade de Aveiro, 2005.
  - [57] R. F. Simpson, D. L. Capone, and M. A. Sefton, “Isolation and identification of 2-methoxy-3,5-dimethylpyrazine, a potent musty compound from wine corks,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 52, no. 17, pp. 5425–5430, 2004.
  - [58] B. L. Prat.C, Trias.R, Culleré.L, Escudero. A, Anticó. Ea, “Off-odor compounds produced in cork by isolated bacteria and fungi: A gas chromatography mass spectrometry and gas chromatography-olfactometry study,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 57, no. 16, pp. 7473–7479, 2009.
  - [59] P. Chatonnet, A. Fleury, and S. Boutou, “Origin and incidence of 2-methoxy-3,5-dimethylpyrazine, a compound with a ‘fungal’ and ‘corky’ aroma found in cork stoppers and oak chips in contact with wines,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 58, no. 23, pp. 12481–12490, 2010.
  - [60] G. Weingart, H. Schwartz, R. Eder, and G. Sontag, “Determination of geosmin and 2,4,6-trichloroanisole in white and red Austrian wines by headspace SPME-GC/MS and comparison with sensory analysis,” *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 231, no. 5, pp. 771–779, 2010.
  - [61] N. N. Gerber and H. A. Lechevalier, “Geosmin, an Earthy-Smelling Substance Isolated from Actinomycetes,” *Appl. Microbiol.*, vol. 13, no. 6, pp. 935–938, 1965.
  - [62] P. Darriet, M. Pons, S. Lamy, and D. Dubourdieu, “Identification and quantification of geosmin, an earthy odorant contaminating wines,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 48, no. 10, pp. 4835–4838, 2000.
  - [63] S. La Guerche, B. Dauphin, M. Pons, D. Blancard, and P. Darriet, “Characterization of some mushroom and earthy off-odors microbially induced by the development of rot on grapes,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 54, no. 24, pp. 9193–9200, 2006.
  - [64] T. O. Larsen and J. C. Frisvad, “Characterization of volatile metabolites from 47 *Penicillium* taxa,” *Mycol. Res.*, vol. 99, no. 10, pp. 1153–1166, 1995.
  - [65] R. Bentley and R. Meganathan, “Geosmin and Methylisobornel Biosynthesis in *Streptomyces*,” *North-holl. Biomed. Press*, vol. 125, no. 2, pp. 220–222, 1981.
  - [66] J. J. R. Álvarez-Rodríguez. M.L, Belloch. C, Villa. M, Uruburu. F, Larrib. G, Coque, “Degradation of vanillic acid and production of guaiacol by microorganisms isolated from cork samples,” *FEMS Microbiol. Lett.*, vol. 220, no. 1, pp. 49–55, 2003.
  - [67] R. F. Simpson, J. M. Amon, and A. J. Daw, “Off-flavour in wine caused by guaiacol,” *Food Technol. Aust*, vol. 38, no. 1, pp. 31–33, 1986.
  - [68] D. Özhan, R. E. Anli, N. Vural, and M. Bayram, “Determination of Chloroanisoles and Chlorophenols in Cork and Wine by using HS-SPME and GC-ECD Detection,” *J. Inst. Brew.*, vol. 115, no. 1, pp. 71–77, 2009.
  - [69] M. C. Meilgaard, B. T. Carr, and G. V. Civille, *Sensory Evaluation Techniques*. New York: CRC Press, 2007.
  - [70] Anónimo, “Manual de análise sensorial.” CTCOR, Sta. Maria de Lamas, 2015.
  - [71] Sérgio Moutinho, “Análise sensorial - Uma ferramenta analítica na garantia da inocuidade sensorial das rolhas de cortiça,” em *Colóquio Alabe*, 2008.
  - [72] P. Chatonnet, D. Labadie, and S. Boutou, “Study of chloroanisoles assay and TCA assay validation in wine and cork stoppers soaked in dilute alcohol solution using SIDA-HSSPME-GC-MS/EI-SIM,” *J. Int. des Sci. la Vigne du Vin*, vol. 39, no. 3,

- pp. 137–147, 2005.
- [73] J. . Murray, C. . Delahunty, and I. . Baxter, “Descriptive sensory analysis: past, present and future,” *Food Res. Int.*, vol. 34, no. 6, pp. 461–471, 2001.
  - [74] R. E. Boulton, R.B., Singleton, V.L., Bisson, L.F. and Kunkee, *Principles and practices of winemaking*. New York: Springer US, 2008.
  - [75] J. Bentley and G. P. A. Turner, *Introduction to Paint Chemistry and principles of paint technology*, 4th editio. UK: Chapman and Hall, 1997.
  - [76] Natural Cork User Group, “International guide for buying cork stoppers for still wine,” , Folheto informativo, Portugal, 2007.
  - [77] N. Kontoudakis, P. Biosca, R. Canals, F. Fort, J. M. Canals, and F. Zamora, “Impact of stopper type on oxygen ingress during wine bottling when using an inert gas cover,” *Aust. J. Grape Wine Res.*, vol. 14, no. 2, pp. 116–122, 2008.
  - [78] M. E. Rosa and M. A. Fortes, “Rate effects on the compression and recovery of dimensions of cork,” *J. Mater. Sci.*, vol. 23, no. 3, pp. 879–885, 1988.
  - [79] O. Anjos, H. Pereira, and M. E. Rosa, “Effect of quality, porosity and density on the compression properties of cork,” *Holz als Roh - und Werkst.*, vol. 66, no. 4, pp. 295–301, 2008.
  - [80] I. L. De Mattos, K. A. Shiraishi, A. D. Braz, and J. R. Fernandes, “Peróxido de hidrogénio: Importância e determinação,” *Quim. Nova*, vol. 26, no. 3, pp. 373–380, 2003.
  - [81] D. L. Capone, G. K. Skouroumounis, and M. a Sefton, “Permeation of 2,4,6-trichloroanisole through cork closures in wine bottles,” *Aust. J. grape wine Res.*, vol. 8, no. 3, pp. 196–199, 2002.
  - [82] *ISO 20752: Cork stoppers - Determination of releasable 2, 4, 6-trichloroanisole (TCA)*. International Organization for Standardization, 2014.
  - [83] C. Pereira and L. Gil, “O Problema do Odor a Mofo nas Rolhas de Cortiça e Processos para a sua Redução/Eliminação,” *Silva Lusit.*, vol. 14, no. 1, pp. 101–111, 2006.
  - [84] C. S. Pereira, P. Danesh, J. J. F. Marques, and M. V. S. Romão, “O gosto a rolha em vinho-Estado actual dos conhecimentos,” *Ciência Téc. Vitiv*, vol. 14, no. 2, pp. 79–99, 1999.
  - [85] C. Butzke, T. Evans, and S. Ebeler, “Detection of Cork Taint in Wine Using Automated Solid-Phase MicroExtraction in Combination with GC/MS-SIM,” *Chem. Wine Flavor*, vol. 714, pp. 15–208, 1998.
  - [86] G. J. Soleas, J. Yan, T. Seaver, and D. M. Goldberg, “Method for the gas chromatographic assay with mass selective detection of trichloro compounds in corks and wines applied to elucidate the potential cause of cork taint,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 50, no. 5, pp. 1032–1039, 2002.
  - [87] T. Engen and C. Pfaffmann, “Absolute judgements of odour intensity,” *J. Exp. Psychol.*, vol. 59, pp. 214–219, 1960.
  - [88] *ISO 22308 Cork stoppers - Sensory analysis*. International Organization for Standardization, 2005.
  - [89] G. F. Dawson, *Easy Interpretation of Biostatistics- The Vital Link to Applying Evidence*. USA: Saunders, 2008.
  - [90] B. Pereira, P. Lopes, J. Marques, M. Pimenta, C. Alves, I. Roseira, A. Mendes, and M. Cabral, “Sealing effectiveness of different types of closures towards volatile phenols and haloanisoles,” *J. Int. des Sci. la Vigne du Vin*, vol. 47, no. 2, pp. 145–157, 2013.

- [91] M. V. Moreno-Arribas and M. C. Polo, "Interactions Between Wine Matrix Macro-Components and Aroma Compounds," in *Wine Chemistry and Biochemistry*, New York: Springer, 2009, pp. 417–435.
- [92] A. L. Robinson, S. E. Ebeler, H. Heymann, P. K. Boss, P. S. Solomon, and R. D. Trengove, "Interactions between wine volatile compounds and grape and wine matrix components influence aroma compound headspace partitioning," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 57, no. 21, pp. 10313–10322, 2009.
- [93] R. Alzaga, L. Ortiz, F. Sánchez-Baeza, M. P. Marco, and J. M. Bayona, "Accurate determination of 2,4,6-trichloroanisole in wines at low parts per trillion by solid-phase microextraction followed by GC-ECD," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 51, no. 12, pp. 3509–3514, 2003.
- [94] H. Sahai and M. I. Ageel, "One-Way Classification" in *The analysis of variance*, New York: Birkhäuser Basel, 2000, pp. 11-123.
- [95] R. Juanola, D. Subirà, V. Salvadó, J. A. G. Regueiro, and E. Anticó, "Migration of 2,4,6-trichloroanisole from cork stoppers to wine," *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 220, no. 3–4, pp. 347–352, 2005.

## 6. Anexos

### Anexo I: Tabela de amostragens

**Tabela de amostragens**

Dimensão da amostragem									
Dimensão do lote	Comprimento	Diâmetro	Massa/Massa volúmica	Humidade	Capilaridade	Força de extração	Resíduos sólidos	Estanquicidade	Água fervente
≤1200	20	20	20	20	6	6	1 x 4	6	10
≤3200	32	32	32	32	6	8	1 x 4	6	10
≤10000	32	32	32	32	6	10	1 x 4	8	10
≤35000	50	50	50	50	6	10	1 x 4	10	20
≤50000	50	50	50	50	8	15	1 x 4	10	25
≤100000	80	80	80	80	8	20	1 x 4	10	30
≤150000	150	150	150	150	8	20	2 x 4	10	30
≤200000	180	180	180	180	8	25	2 x 4	10	50
≤250000	200	200	200	200	10	25	2 x 4	12	50

## Anexo II: Ficha de prova da análise sensorial

Fornecedor/Cliente \_\_\_\_\_ N° de relatório \_\_\_\_\_ N° de guia/Lote \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Hora de início \_\_\_\_\_ Hora de fim \_\_\_\_\_

### Assinalar com um “x” o calibre, tipo/qualidade e classe do lote analisado.

Calibre (mm) 38x24 \_\_\_\_ 45x24 \_\_\_\_ 49x24 \_\_\_\_ 54x24 \_\_\_\_ Outro \_\_\_\_\_

Tipo/ Qualidade Natural \_\_\_\_ Natural colmatada \_\_\_\_

Classe Flor \_\_\_\_ Extra \_\_\_\_ Superior \_\_\_\_ 1° \_\_\_\_ 2° \_\_\_\_ 3° \_\_\_\_ 4° \_\_\_\_

N° total de frascos: \_\_\_\_\_ N° de rolhas por frasco: \_\_\_\_\_

Método (matriz utilizada): \_\_\_\_\_

Porcentagem de rolhas contaminadas no lote \_\_\_\_\_

### Prova sensorial

Provador 1: \_\_\_\_\_

N° de frasco	N° de rolhas	Descritor de aroma detetado	Nível de intensidade

Notas:

Provador 2: \_\_\_\_\_

N° de frasco	N° de rolhas	Descritor de aroma detetado	Nível de intensidade

Notas:

## Anexo III: Formação inicial- Acolhimento



**precisionelite**  
cork is life

### FR 42 -FORMAÇÃO INICIAL – ACOLHIMENTO

#### 1. Identificação Colaborador

Nome:	Inês Carvalho Pereira
Função:	Estrategista da U.A - "Análise Sensorial"

#### 2. Formação Inicial

Área	Responsável	Tema/Assunto	Tempo Previsto	Data / Horário	Rubrica Resp.
GE	Luísa Nero	- Histórico da empresa - Visão Geral Produtos e Serviços - Missão - Visão - Política da Gestão	1 hora	20/09/16 9:00h	
RH	Luísa Nero	- Regras (horários, férias, etc.) - Entrega de vestuário de trabalho - Apresentação do posto de trabalho - Plano formação (N.A)	30 min	20/09/16 10:00h	
PROD	João Coelho	- Visita às instalações - Apresentação do processo produtivo	1 hora	20/09/16 14:00h	
QA	Ana Rios	- Manual do Sistema de Gestão Integrado - Sistema de Gestão da Qualidade	30 min	21/09/16 9:00h	Ana Rios
SHST HACCP Ambiente	Ana Rios	- Visita às instalações e apresentação dos pontos de emergência - Noções de HACCP	1 hora	21/09/16 9:00h	Ana Rios

Observações: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

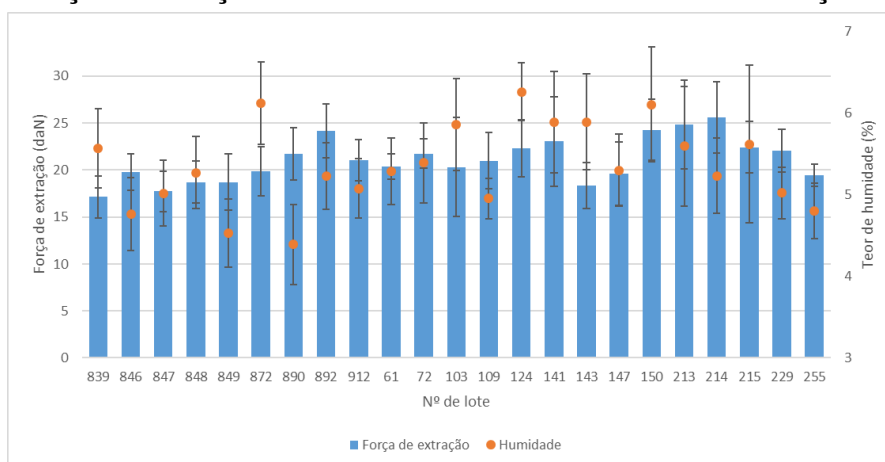
Data: 21/09/2016

Responsável RH:

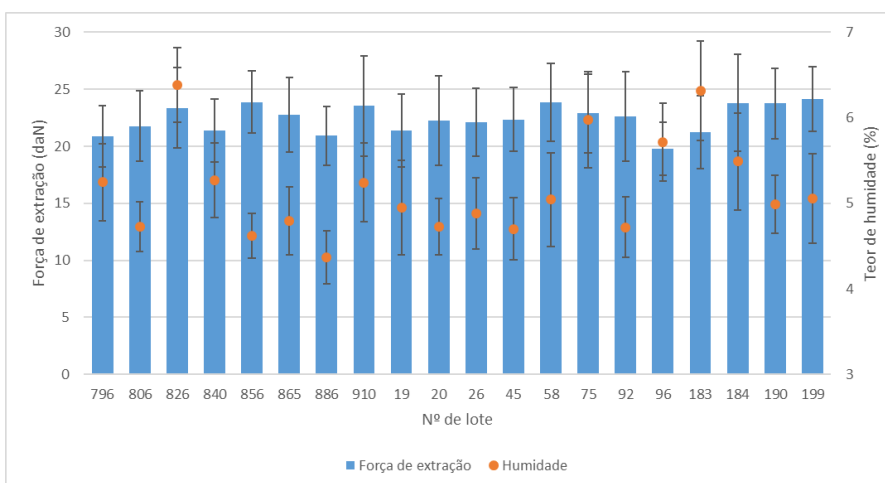
Colaborador: Inês Pereira



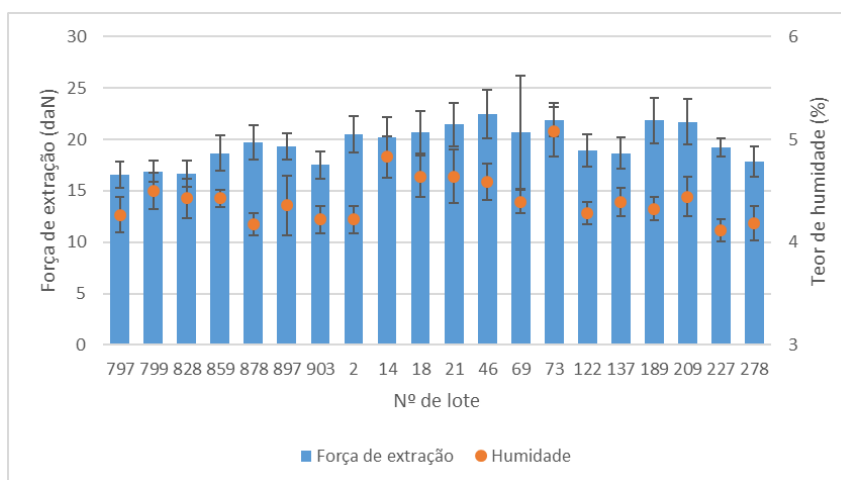
#### Anexo IV: Força de extração e o teor de humidade das rolhas de cortiça



**Figura A1:** Força de extração (em daN) e o teor de humidade (em %) de lotes de rolhas naturais com revestimento.

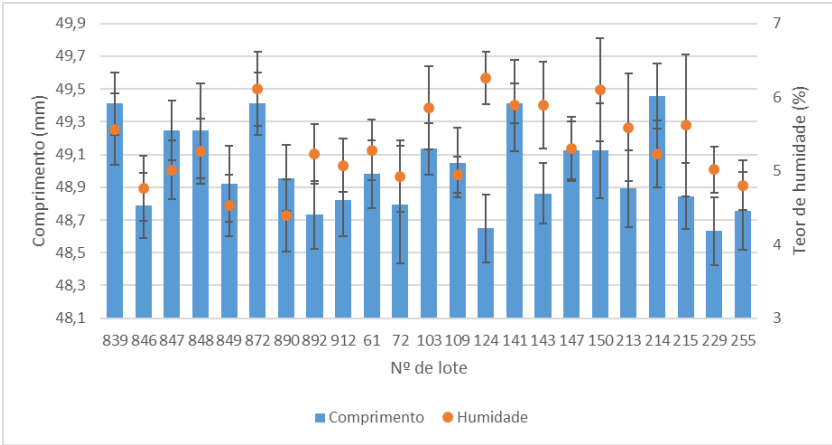


**Figura A2:** Força de extração (em daN) e o teor de humidade (%) de lotes de rolhas naturais colmatadas.

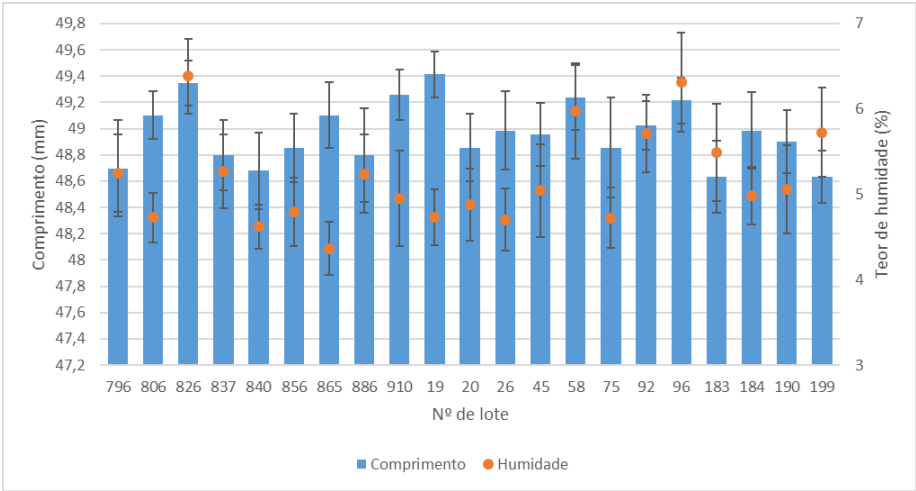


**Figura A3:** Força de extração (em daN) e o teor de humidade (em%) de lotes de rolhas aglomeradas/ microaglomeradas.

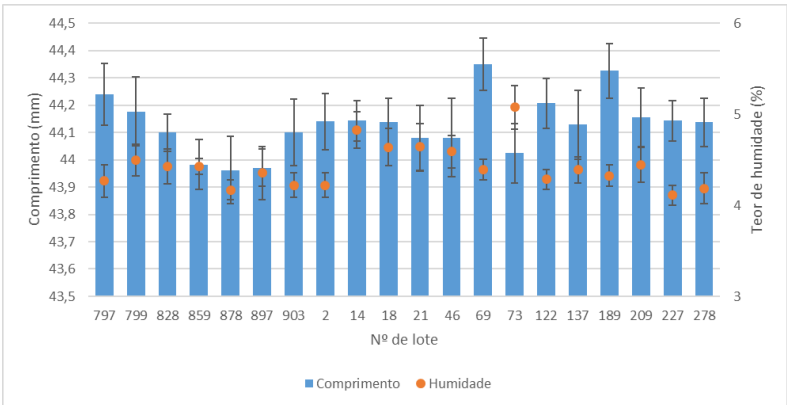
Anexo V: Dimensões e o teor de humidade das rolhas de cortiça



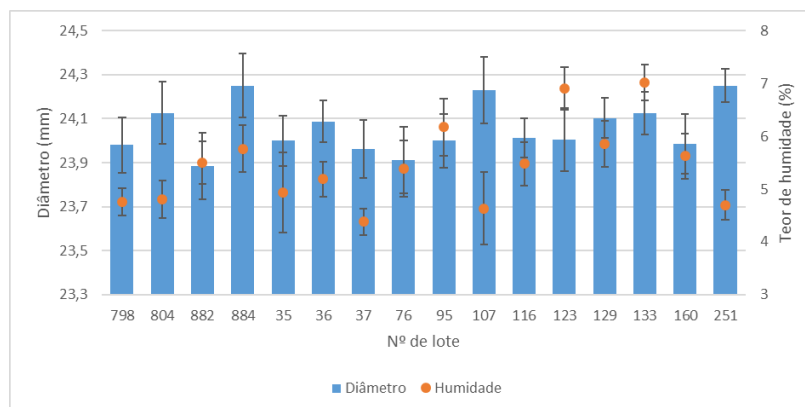
**Figura A4:** Comprimento (em mm) e o teor de humidade (%) de lotes de rolhas naturais com revestimento.



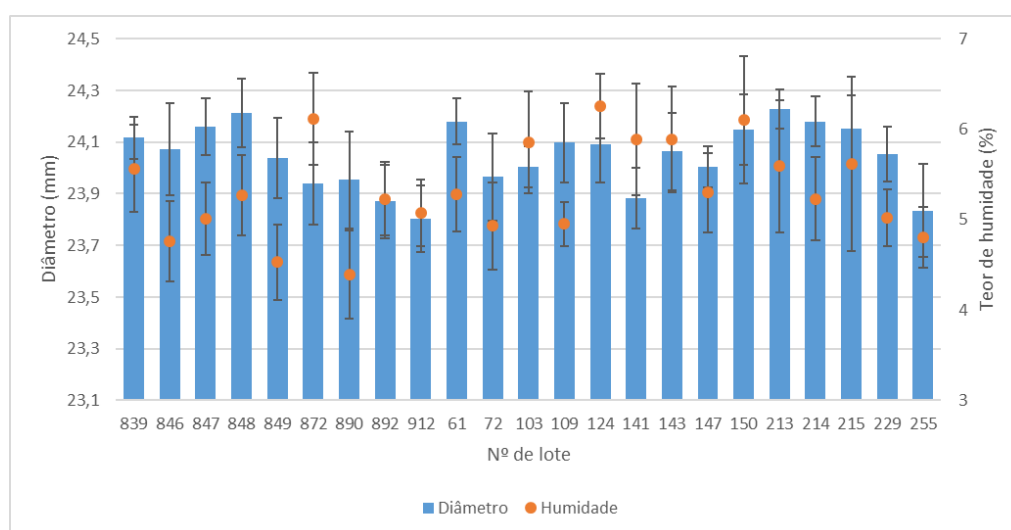
**Figura A5:** Comprimento (em mm) e o teor de humidade (em %) de lotes de rolhas naturais colmatadas.



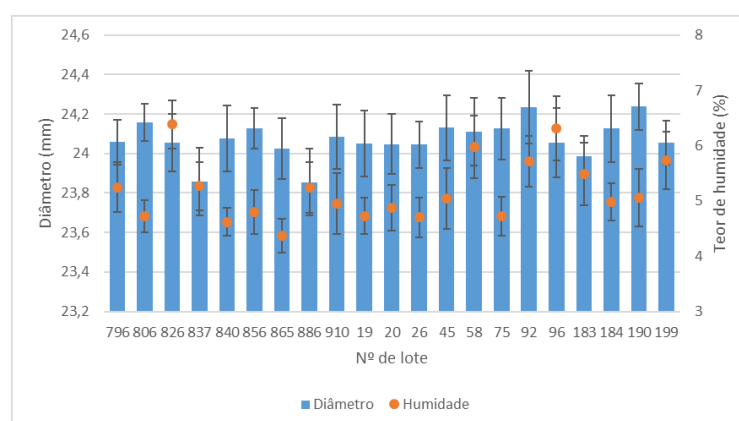
**Figura A6:** Comprimento (em mm) e o teor de humidade (em %) de lotes de rolhas aglomeradas/microaglomeradas.



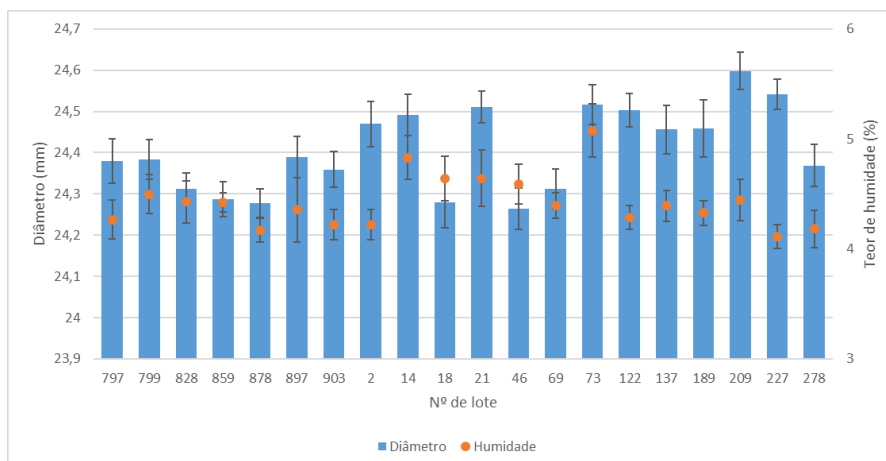
**Figura A7:** Diâmetro (em mm) e o teor de humidade (em %) de lotes de rolhas naturais sem revestimento.



**Figura A8:** Diâmetro (em mm) e o teor de humidade (em %) de lotes de rolhas naturais com revestimento.



**Figura A9:** Diâmetro (em mm) e o teor de humidade (em %) de lotes de rolhas naturais colmatadas.



**Figura A10:** Diâmetro (em m) e o teor de humidade (%) de lotes de rolhas aglomeradas/microaglomeradas.

## Anexo VI: Análise sensorial e quantificação de haloanisóis das rolhas de cortiça naturais

**Tabela A1:** Análise sensorial: aroma, intensidade e percentagem de rolhas contaminadas e quantificação de haloanisóis relativos às rolhas naturais.

Nº de relatório de receção	Análise sensorial			Quantificação de haloanisóis *
	Aroma	Intensidade	% de rolhas contaminadas	[TCA] ng/L
801	TCA	Intenso	0,9	-
525	TCA	Ligeiro	1,6	-
811	Pó	Ligeiro	7,0	-
	Musgo	Muito intenso		
	TCA	Intenso		
	TCA	Moderado		
812	TCA	Muito intenso	2,9	6,4
	Vegetal	Moderado		
813	TCA	Muito ligeiro	2,3	-
	Mofo	Moderado		
	TCA	Ligeiro		
817	Mofo	Moderado	6,7	-
	Mofo	Intenso		
	Mofo	Ligeiro		
	Fumo	Intenso		
	Vegetal - balsâmico	Muito intenso		
816	TCA	Muito intenso	3,8	-
	TCA	Moderado		
	Pó	Ligeiro		
	TCA	Ligeiro		
815	Mofo	Intenso	4,4	-
	Mofo	Moderado		
	Mofo	Muito intenso		
814	Musgo/terros	Muito intenso	4,4	-
	Mofo	Moderado		
	TCA	Ligeiro		
819	TCA	Ligeiro	2,1	4,8
	Mofo	Intenso		
824	-	-	0	-
825	TCA	Ligeiro	2,7	0,8
830	Mofo	Intenso	8,2	-
	Terra	Intenso		

	TCA	Moderado		
	Mofo	Moderado		
831	TCA	Ligeiro	2,5	0,9
844	Mofo	Moderado	13	-
	TCA	Moderado		
	TCA	Ligeiro		
842	TCA	Moderado	12	-
	Mofo	Moderado		
	Mofo	Muito intenso		
843	Mofo	Intenso	10	-
	Mofo	Moderado		
	Mofo	Ligeiro		
852	Mofo	Ligeiro	1,0	0,78
851	Mofo	Intenso	1,4	-
863	Mofo	Moderado	4,6	0,8
	Mofo	Ligeiro		
	Mofo	Muito ligeiro		
864	Mofo	Moderado	4,4	-
	Mofo	Ligeiro		
867	Mofo	Muito ligeiro	2,0	-
	Mofo	Moderado		
866	TCA	Ligeiro	1,0	-
873	Mofo	Intenso	7,2	-
	TCA	Ligeiro		
	Mofo	Moderado		
313	Mofo	Muito intenso	5,0	1
	Mofo	Intenso		
	TCA	Ligeiro		
	Mofo	Ligeiro		
876	Mofo	Moderado	1,9	-
	TCA	Ligeiro		
879	Mofo	Muito intenso	6,0	-
	Mofo	Intenso		
893	Mofo	Moderado	1,1	-
888	Mofo	Moderado	3,0	<LQ**
	TCA	Moderado		
	TCA	Ligeiro		
894	TCA	Moderado	3,0	0,6
	TCA	Ligeiro		
895	Mofo	Intenso	3,0	0,7
	Mofo	Ligeiro		
	TCA	Ligeiro		
905	Mofo	Moderado	0,8	1,25
907	TCA	Moderado	4,0	-

	TCA	Ligeiro		
906	Mofo	Intenso	6,7	-
	TCA	Moderado		
	Mofo	Ligeiro		
908	Mofo	Ligeiro	2,0	-
916	Mofo	Moderado	1,3	
914	-	-	0	1,1
915	Mofo	Muito ligeiro	1,0	-
918	Mofo	Intenso	6,3	-
	Mofo	Ligeiro		
919	Mofo	Intenso	2,7	0,7
	Mofo	Ligeiro		
	Mofo	Moderado		
922	-	-	0	<LD**
921	Mofo	Ligeiro	0,9	50/2,1
28	Mofo	Moderado	1,2	1,2
29	Mofo	Intenso	1,1	1,5
30	Mofo	Intenso	0,9	-
31	Mofo	Intenso	2,1	-
	Mofo	Moderado		
	Mofo	Ligeiro		
32	Mofo	Moderado	5,9	-
	Mofo	Intenso		
	Mofo	Muito intenso		
33	Mofo	Moderado	1,7	-
43	-	-	0,0	-
894	Mofo	Moderado	2,0	-
	TCA	Moderado		
43	-	-	0,0	-
50	Mofo	Intenso	6,25	-
	Mofo	Moderado		
	Mofo	Ligeiro		
	TCA	Muito ligeiro		
51	TCA	Moderado	8,3	-
	Terroso	Ligeiro		
	TCA	Ligeiro		
	Mofo	Ligeiro		
	Herbáceo	Muito intenso		
	Mofo	Intenso		
68	Mofo	Ligeiro	4,2	-
	Mofo	Moderado		
	Mofo	Intenso		
80	Mofo	Intenso	2,0	-
	Mofo	Moderado		
77	Mofo	Intenso	1,7	-
78	Mofo	Ligeiro	4,0	-
	Mofo	Moderado		
	Mofo	Muito ligeiro		

81	Mofo Mofo Herbáceo	Intenso Moderado Intenso	6,0	-
82	Mofo Mofo Mofo Mofo	Intenso Moderado Ligeiro Muito intenso	10	-
84	Mofo Mofo Mofo	Intenso Moderado Ligeiro	3,0	-
85	Mofo	Moderado	2,2	-
86	Mofo Mofo	Intenso Moderado	3,3	-
87	Mofo	Moderado	1,3	-
88	Mofo	Ligeiro	1,3	-
89	Mofo	Moderado	1,3	-
226	Mofo	Moderado	2,9	-
111	Mofo Mofo Mofo Mofo	Muito ligeiro Intenso Moderado Muito intenso	4,6	
112	Mofo Mofo Mofo Mofo	Muito intenso Ligeiro Intenso Moderado	10	-
113	Mofo Mofo Mofo	Ligeiro Moderado Muito ligeiro	7,1	-
114	Mofo Mofo Mofo	Ligeiro Moderado Intenso	6,7	-
115	Mofo Mofo Mofo	Muito intenso Ligeiro Moderado	3,3	-
127	TCA	Ligeiro	2,0	-
135	-	-	0,0	-
125	Mofo Mofo	Muito intenso Ligeiro	8,0	-
871	Mofo	Muito intenso	1,0	<LQ
162	Mofo Mofo Mofo	Intenso Moderado Ligeiro	5,0	-
161	Mofo Terroso Mofo	Intenso Intenso Moderado	3,0	-
163	TCA	Ligeiro	1,1	<LD
166	Mofo Mofo	Intenso Moderado	5,0	<LD
167	Mofo	Moderado	1,4	0,7



164	Mofo Mofo Mofo	Intenso Ligeiro Moderado	5,0	-
172	-	-	0,0	-
173	Mofo	Muito ligeiro	1,7	-
170	Mofo	Muito intenso	2,5	1,1
171	Mofo	Moderado	1,7	1,1
168	Mofo Mofo	Muito intenso Intenso	2,5	0,9
169	Mofo	Muito intenso	1,4	-
A922	-	-	0,0	<LD
191	-	-	0,0	<LD
192	-	-	0,0	<LD
193	-	-	0,0	-
195	-	-	0,0	-
194	Mofo	Muito ligeiro	1,3	-
248	Mofo Mofo	Intenso Ligeiro	2,2	-
260	-	-	0,0	-
267	Mofo Mofo Mofo TCA	Ligeiro Moderado Muito ligeiro Ligeiro	5,6	-
268	Mofo Mofo Mofo TCA	Ligeiro Muito intenso Moderado Ligeiro	5,0	-
Amostra 1	-	-	0,0	-
Amostra 2	Mofo Mofo TCA	Muito intenso Moderado Muito intenso	4,0	-
Amostra 3	Mofo TCA	Intenso Moderado	1,5	-
Amostra 4	TCA	Ligeiro	1,1	<LD
Amostra 5	Mofo	Intenso	1,3	1,7
Amostra 6	Mofo Mofo	Ligeiro Moderado	2,2	-
Amostra 7	-	-	0,0	<LD
Amostra 8	Mofo	Muito ligeiro	1,2	-
Amostra 9	Mofo Mofo Herbáceo	Ligeiro Moderado Intenso	2,9	-
Amostra 10	Mofo	Muito intenso	10,0	-
	Mofo Bafio Mofo	Moderado Intenso Intenso		

Amostra 11	-	-	0,0	-
Amostra 12	Mofo Mofo	Intenso Moderado	2,5	-
Amostra 13	Mofo Mofo Mofo	Intenso Moderado Ligeiro	3,0	-
Amostra 14	Mofo Mofo	Ligeiro Moderado	5,0	-
Amostra 15	Paprika	Moderado	2,0	-
Amostra 16	-	-	0,0	-
Amostra 17	Mofo	Moderado	1,7	-
Amostra 18	Mofo	Ligeiro	1,8	0,8
Amostra 19	Mofo Mofo Mofo	Moderado Intenso Ligeiro	4,0	-
Amostra 20	Mofo	Ligeiro	1,7	-
Amostra 21	Vegetal TCA	Ligeiro Ligeiro	5,0	-
Amostra 22	Mofo Mofo	Ligeiro Moderado	4,7	-
Amostra 23	Mofo Mofo Mofo	Ligeiro Intenso Moderado	4,0	-
Amostra 24	Mofo Mofo	Intenso Moderado	3,0	-
Amostra 25	Mofo Mofo TCA	Intenso Moderado Moderado	4,0	-
Amostra 26	Mofo Mofo Mofo	Ligeiro Moderado Intenso	10,0	-
Amostra 27	Mofo Mofo	Ligeiro Muito ligeiro	2,0	-
Amostra 28	Mofo Mofo Mofo	Intenso Ligeiro Moderado	4,2	-
Amostra 29	Mofo Mofo	Muito intenso Ligeiro	10,5	-

\* A quantificação de haloanisóis não foi realizada para todos os lotes

\*\* LQ- Limite de quantificação (0,5 ng/L) e LD- Limite de detecção (0,3 ng/L).

**Tabela A2:** Análise sensorial: aroma, intensidade e percentagem de rolhas contaminadas e quantificação de haloanisóis relativos às rolhas naturais colmatadas.

Nº de relatório de receção	Análise sensorial			Quantificação de haloanisóis
	Aroma	Intensidade	% de rolhas contaminadas	[TCA] ng/L
728	TCA	Intenso	3,0	3,1
	TCA	Moderado		
	TCA	Muito ligeiro		
764	TCA	Ligeiro	4,0	-
	TCA	Moderado		
	TCA	Muito ligeiro		
810	Poeira	Moderado	3,8	1,0
	Mofo	Intenso		
	TCA	Ligeiro		
	Herbáceo	Moderado		
524	-	-	0,0	-
751	Mofo	Moderado	4,0	-
835	-	-	0,0	-
791	Mofo	Moderado	7,5	-
	Mofo	Ligeiro		
	Mofo	Intenso		
	TCA	Ligeiro		
	Caramelo	Moderado		
892	Mofo	Muito intenso	2,0	-
	TCA	Moderado		
24	-	-	0,0	1,0
834	Mofo	Ligeiro	2,5	-
836	Mofo	Ligeiro	1,6	-
	Mofo	Moderado		
77	Mofo	Intenso	1,7	-
79	Mofo	Intenso	2,0	1,4
	Mofo	Moderado		
93	Mofo	Muito intenso	3,0	-
	Mofo	Intenso		
101	Mofo	Moderado	2,9	1,2
891	Mofo	Intenso	1,0	<L.Q
	Mofo	Moderado		
188	Mofo	Intenso	1,9	1,7
258	Mofo	Intenso	1,0	-

**Anexo VII: Análise sensorial de rolhas de cortiça natural de diferentes classes provenientes de cada recolha de cortiça**

**Tabela A3:** Análise sensorial: aroma, intensidade e percentagem de rolhas contaminadas por cada recolha analisadas.

Recolha	Classe	Análise sensorial		
		Aroma	Intensidade	% de rolhas contaminadas
1	2	TCA	Intenso	5,3
		Vegetal	Moderado	
		TCA	Muito ligeiro	
		TCA	Ligeiro	
	3	TCA	Intenso	1,0
	4	TCA	Muito ligeiro	1,0
	4/5	-	-	0,0
	5/6	TCA	Moderado	2,1
2	2	TCA	Muito ligeiro	2,3
		TCA	Ligeiro	
		Mofo	Moderado	
	3	TCA	Muito intenso	2,9
		Vegetal	Moderado	
3	Flor	Musgo/Terroso	Muito intenso	3,8
		Mofo	Moderado	
		TCA	Ligeiro	
	Extra	Mofo	Intenso	4,4
		Mofo	Moderado	
		Mofo	Muito intenso	
	Superior	TCA	Muito intenso	3,8
		TCA	Moderado	
		TCA	Ligeiro	
		Poeira	Ligeiro	
4	2	TCA	Ligeiro	2,7
	3	-	-	0
5	1	Mofo	Intenso	10
		Mofo	Ligeiro	
		Mofo	Moderado	
	2	Mofo	Moderado	13
		TCA	Moderado	
		TCA	Ligeiro	

	3	TCA	Moderado	12
		Mofo	Muito intenso	
		Mofo	Moderado	
6	Superior	Mofo	Moderado	2,0
		Mofo	Muito ligeiro	
	1	Mofo	Ligeiro	1,0
7	2	Mofo	Moderado	1,3
	3	TCA	Moderado	4
		TCA	Ligeiro	
8	2	-	-	0
	3	Mofo	Muito ligeiro	1,0
9	1	Mofo	Moderado	1,2
	2	Mofo	Intenso	1,1
	3	Mofo	Intenso	0,9
	4	Mofo	Intenso	2,1
		Mofo	Moderado	
		Mofo	Ligeiro	
10	2	Mofo	Intenso	6,3
		Mofo	Moderado	
		Mofo	Ligeiro	
		TCA	Muito ligeiro	
	3	TCA	Moderado	8,3
		Terroso	Ligeiro	
		TCA	Ligeiro	
		Mofo	Ligeiro	
		Herbáceo	Muito intenso	
		Mofo	Intenso	
11	3	Mofo	Intenso	2,0
		Mofo	Moderado	
	4	Mofo	Moderado	4,0
		Mofo	Ligeiro	
		Mofo	Muito ligeiro	
	5	Mofo	Intenso	1,7
12	3	Mofo	Moderado	1,7
	4	-	-	0,0
13	2	Mofo	Intenso	6,0
		Mofo	Moderado	
		Herbáceo	Intenso	
	3	Mofo	Intenso	10
		Mofo	Moderado	
		Mofo	Muito intenso	
		Mofo	Ligeiro	
14	2	Mofo	Intenso	3,0

		Mofo	Moderado	
		Mofo	Ligeiro	
	3	Mofo	Moderado	2,2
15	1	Mofo	Moderado	1,3
	2	Mofo	Ligeiro	1,3
	3	Mofo	Moderado	1,3
16	1	Mofo	Muito intenso	10
		Mofo	Intenso	
		Mofo	Moderado	
		Mofo	Ligeiro	
	2	Mofo	Moderado	7,1
		Mofo	Ligeiro	
		Mofo	Muito ligeiro	
	3	Mofo	Ligeiro	6,7
		Mofo	Moderado	
		Mofo	Intenso	
17	1	Mofo	Intenso	3,0
		Mofo	Moderado	
		Mofo	Ligeiro	
	2	Mofo	Ligeiro	5,0
		Mofo	Moderado	
18	3	Mofo	Moderado	1,4
	4	Mofo	Moderado	5,0
		Mofo	Intenso	
19	Extra	Mofo	Muito intenso	2,5
	Superior	Mofo	Moderado	1,7
	1	-	-	0,0
	2	Mofo	Muito ligeiro	1,7
20	2	Mofo	Muito intenso	2,5
		Mofo	Intenso	
	3	Mofo	Muito intenso	1,4
21	1	-	-	0,0
	2	Mofo	Muito ligeiro	1,3
	3	-	-	0,0
22	Superior	Herbáceo	Ligeiro	5,0
		TCA	Ligeiro	
	1	Mofo	Ligeiro	4,7
		Mofo	Moderado	
23	Extra	Mofo	Ligeiro	2,0
		Mofo	Muito ligeiro	
	Superior	Mofo	Ligeiro	4,2
		Mofo	Intenso	
		Mofo	Moderado	

	2	Mofo	Ligeiro	4,0
		Mofo	Moderado	
		Mofo	Intenso	
	3	TCA	Moderado	10
		Mofo	Moderado	
		Mofo	Intenso	
24	1	Mofo	Moderado	5,6
		Mofo	Ligeiro	
		Mofo	Muito ligeiro	
		TCA	Ligeiro	
	2	Mofo	Muito intenso	5,0
		Mofo	Moderado	
		Mofo	Ligeiro	
		TCA	Ligeiro	